



Università degli Studi

**UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PALERMO**



Ministero dell'Università e

**Facoltà di Farmacia  
Dipartimento di Scienze e Tecnologie Molecolari e  
Biomolecolari**

**DOTTORATO DI RICERCA  
IN  
“Tecnologie delle Sostanze Biologicamente Attive”  
XXIII CICLO, A.A. 2008/2009  
SSD CHIM/09**

- 1. SINTESI DI ANALOGHI DI ACIDI NUCLEICI  
PEPTIDICI CICLICI ATTRAVERSO  
REAZIONI DI CICLOADDIZIONE 1,3-DIPOLARE**
- 2. VALORIZZAZIONE CHIMICA DEL LATTOSIO**

**Coordinatore:  
Ch.mo Prof. Gaetano Giammona**

**Tesi di Dottorato di Ricerca di:  
Graziella Greco**

**Tutor:  
Ch.mo Prof. Antonino Corsaro**

Il lavoro illustrato in questa Tesi di Dottorato in “*Tecnologie delle Sostanze Biologicamente Attive*” dell’**Università di Palermo** è stato sviluppato presso due sedi universitarie:

- **Università di Catania**, *Dipartimento di Scienze del Farmaco, Facoltà di Farmacia, Viale A. Doria 6, 95125, Catania*
- **Università di Saragozza**, *Dipartimento di Chimica Organica, Facoltà di Scienze, Calle Pedro Cerbuna 12, 50009, Saragozza*

ed ha permesso di pubblicare i seguenti lavori:

- **N-Methylimidazole: Attractive and Valuable Chameleonic Species** G. Greco  
*Synlett* **2011**, 17, 2595-2596.
- **High-yield synthesis of pyrrolidiny PNA monomers**  
P. Merino, G. Greco, T. Tejero, U. Chiacchio, A. Corsaro, V. Pistarà , G. Romeo  
*Tetrahedron Letters* 52 , **2011**, 6003-6006.
- **Design, Synthesis, Molecular Docking and Crystal Structure Prediction of New Azasugar Analogues of  $\alpha$ -Glucosidase Inhibitors**  
V. Pistarà, A. Rescifina, F. Punzo, G. Greco, V. Barbera, A. Corsaro, A. *Eur. J. Org. Chem.* **2011**, 36, 7278-7287.
- **Synthesis of new 2-substituted 3-amino-4-hydroxymethylthiophenes through intramolecular nitrile oxide cycloaddition processes and N,O-bond cleavage** V. Pistarà, A. Corsaro, M. A. Chiacchio, G. Greco, P. Quadrelli *ARKIVOC* **2011**, (vi), 270-285.
- **Recent Advances on the Synthesis of Piperidines through Ruthenium-Catalyzed Ring-Closing Metathesis (RCM) Reactions** P. Merino, T. Tejero, G. Greco, E. Marca, I. Delso, A. Gómez-SanJuan, R. Matute *Heterocycles* **2012**, 84, 75-100.

## ABBREVIAZIONI

$[\alpha]_D^{20}$	Rotazione specifica
<b>A</b>	Adenina
<b>Ac</b>	Acetile
<b>Ar</b>	Arile
<b>B</b>	Base azotata
<b>9-BBN</b>	9-Borabicyclo[3.3.1]nonano
<b>Bn</b>	Benzile
<b>Boc</b>	<i>tert</i> -Butossicarbonile
<b><i>t</i>Bu</b>	<i>tert</i> -Butil
<b>1,3-DC</b>	Cicloaddizione 1,3-dipolare
<b>DCM</b>	Diclorometano
<b>DMAP</b>	4-Dimetilamminopiridina
<b>DMF</b>	N,N-Dimetilformammide
<b>DNA</b>	Acido desossiribonucleico
<b>ds</b>	Diastereoselettività
<b>Et</b>	Etile
<b>HPLC</b>	Cromatografia liquida ad alta risoluzione
<b>IR</b>	Infrarosso
<b>MCPBA</b>	Acido metacloroperbenzico
<b>Me</b>	Metile
<b>MS</b>	Spettrometria di massa
<b>NOE</b>	Effetto Overhauser Nuclear
<b>NMR</b>	Risonanza Magnetica Nucleare
<b>ODN</b>	Oligodeossinucleotide
<b>Ph</b>	Fenile
<b>P.M.</b>	Peso Molecolare
<b>PNA</b>	Acido Nucleico Peptidico
<b>ppm</b>	Parti per milioni
<b><i>i</i>-Pr</b>	Isopropile
<b>RNA</b>	Acido Ribonucleico

***RNAsi******T******t******TBAF******TBDPS******TFA******THF******TLC******T<sub>m</sub>******TS******UHP*****Ribonucleasi**

Temperatura

Tempo

Fluoruro di tetrabutylammonio

*Tert*-butildifenilsilil

Acido trifluoroacetico

Tetraidrofurano

Thin layer chromatography

Temperatura di fusione

Stato di transizione

Urea-Perossido di idrogeno

# INDICE

## **CAPITOLO 1**

<b>1. Introduzione</b>	<b>1</b>
1.1 Oligonucleotidi di Sintesi	1
1.2 Oligonucleotidi modificati	4
1.3 Acidi Nucleici Peptidici (PNA)	8
1.3.1 Applicazioni terapeutiche	10
1.3.2 Applicazioni in diagnostica	11
1.3.3 Limiti dei PNA	11
1.3.4 PNA ciclici	13
<b>2. Cicloaddizioni 1,3-dipolari</b>	<b>22</b>
2.1 Cicloaddizioni 1,3-dipolari asimmetriche	24
<b>3. Scopo del lavoro</b>	<b>27</b>
<b>4. Risultati e Discussione</b>	<b>29</b>
4.1 Sintesi di cicloadotti isossazolidinici	29
4.2 Sintesi asimmetrica: ausiliare chirale sul dipolarofilo	32
4.2.1 Determinazione strutturale: configurazione relativa	34
4.2.2 Sintesi dei monomeri pirrolidinonici	35
4.2.3 Determinazione strutturale: configurazione assoluta	37
4.2.4 Sintesi dei monomeri pirrolidinici	41
4.3 Sintesi asimmetrica: 1,3-dipoli chirali	43
4.3.1 Studio sull'induzione asimmetrica di nitroni chirali	47
4.3.2 Determinazione strutturale: cicloadotti sostituiti	50
4.4 Cicloaddizioni 1,3-dipolari intramolecolari	52
<b>5. Conclusioni</b>	<b>57</b>
<b>6. Parte sperimentale</b>	<b>58</b>
6.1 Materiali e Metodi	58
6.2 Spettri NMR	97
6.3 Tabelle calcoli computazionali	144
<b>7. Bibliografia</b>	<b>148</b>

## **CAPITOLO 2**

<b>1. Introduzione</b>	<b>155</b>
1.1 Il Lattosio	155
1.2 Valorizzazione chimica	156
1.3 Derivati insaturi del lattosio	157
<b>2. Scopo del lavoro</b>	<b>162</b>
<b>3. Risultati e Discussione</b>	<b>165</b>
3.1 Sintesi di azadisaccaridi da 4-endoglicali	165
3.2 Sintesi di composti 1,5-dicarbonilici da 5-esoglicali	179
<b>4. Conclusioni</b>	<b>185</b>
<b>5. Parte sperimentale</b>	<b>186</b>
5.1 Materiali e Metodi	186
5.2 Spettri NMR	198
<b>6. Bibliografia</b>	<b>214</b>

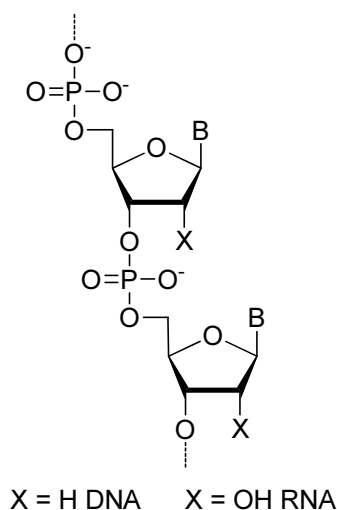
# **CAPITOLO 1**

**Sintesi di Analoghi  
di Acidi Nucleici Peptidici Ciclici  
attraverso Cicloaddizioni 1,3-dipolari**

## 1. Introduzione

### 1.1 Oligonucleotidi di sintesi.

Gli oligonucleotidi di sintesi (ODN) sono oligomeri di acidi nucleici, DNA o RNA, aventi dimensioni che variano da decine a centinaia di unità nucleotidiche (Figura 1.1).



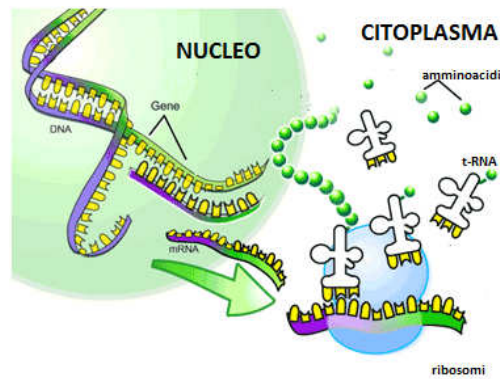
**Figura 1.1:** *Struttura degli ODN*

Nel corso degli ultimi anni, tali composti hanno destato grande interesse in campo terapeutico, poiché sono in grado di interferire con l'espressione genica, processo alla base di tutti i meccanismi biologici.<sup>1</sup> L'informazione genetica conservata nelle molecole di DNA, viene convertita in proteine che svolgono funzioni fisiologiche<sup>2</sup> essenziali per la vita dell'organismo. Un'alterata produzione di tali proteine, molto spesso è causa di malattie virali (herpes simplex, citomegalovirus, HIV) e tumorali (linfomi, leucemie, melanomi). Le terapie tradizionali impiegate per questo tipo di patologie interferiscono sulla proteina alterata, in alcuni casi con poca efficacia accompagnata dall'insorgenza di diversi effetti collaterali.

L'utilizzo degli oligonucleotidi di sintesi, in sostituzione ai farmaci tradizionali, presenta il vantaggio di una maggiore efficacia d'azione e di minori effetti collaterali, poiché gli ODN interferiscono direttamente con gli acidi nucleici, con un elevato grado di specificità d'azione, bloccando a monte la produzione di un numero elevato di proteine.

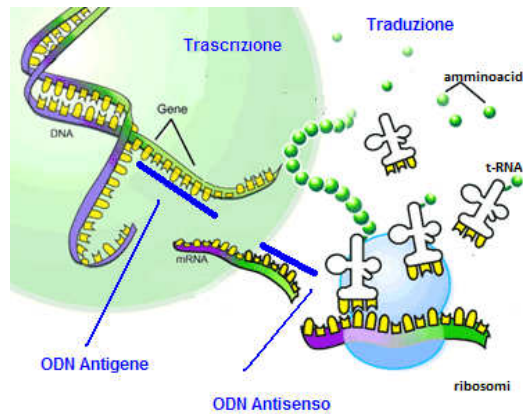
L'espressione genica è un complesso processo che può essere semplificato considerando due stadi principali: la trascrizione di un filamento di DNA in uno di RNA messaggero (*mRNA*) nel nucleo, e la traduzione dell'*mRNA* nelle proteine finali, che avviene sui ribosomi presenti nel citoplasma delle cellule (Figura 1.2).





**Figura 1.2:** *Trascrizione e traduzione cellulare*

L'interferenza con l'espressione genica può essere esplicata dagli oligonucleotidi di sintesi in entrambi gli stadi, utilizzando due strategie diverse: antisenso e antigene (Figura 1.3).

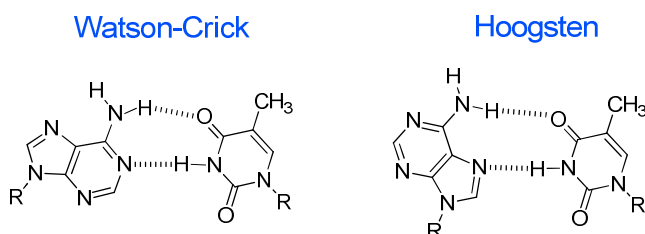


**Figura 1.3:** *Strategia antisenso e antigene*

La strategia antisenso è basata sull'interazione di un oligonucleotide, di 15-17 basi, con un filamento di *mRNA*, ed il conseguente blocco della traduzione nella corrispondente proteina. Statisticamente si ritiene che una sequenza di 17 nucleotidi si rinviene solo una volta nel genoma umano, quindi un ODN di tale lunghezza può arrestare selettivamente l'espressione di un singolo gene. Sono stati ipotizzati due meccanismi attraverso i quali si esplica l'azione antisenso: nel primo, la formazione di una doppia elica di tipo Watson-Crick<sup>3</sup>, tra l'oligonucleotide antisenso e una regione target di un filamento di *mRNA*, blocca, per ingombro sterico, l'interazione con i ribosomi, mentre nel secondo meccanismo perviene l'attivazione di un enzima ubiquitario, la ribonucleasi H (RNAsiH), che è in grado di degradare in maniera specifica il filamento di *mRNA* di una doppia elica (duplex) ODN/RNA.

I primi scienziati che applicarono la strategia antisense a scopo terapeutico, furono Zamecnik e Stephenson<sup>4</sup> che nel 1978, all'Università di Harvard, riuscirono ad inibire la crescita del virus del Sarcoma di Rous in una coltura cellulare, utilizzando un oligonucleotide tridecamero complementare ad una specifica regione dell'*mRNA* del virus.

Di più recente scoperta è la strategia antigene dove un ODN forma una tripla elica (triplex) stabile con il DNA nel nucleo, bloccando l'avvicinamento dell'RNA polimerasi, e di conseguenza la trascrizione del DNA nel filamento di *mRNA*.<sup>5</sup> La formazione della tripla elica si realizza solo con tratti omopurinici del DNA, che vengono riconosciuti dall'ODN, il quale si introduce nel solco maggiore del DNA, e si lega ad esso attraverso legami di tipo Watson-Crick e di tipo Hoogsten (Figura 1.4).



**Figura 1.4:** legami di tipo Watson-Crick e Hoogsten, in questi l'appaiamento Adenina-Timina avviene con un ribaltamento della base purinica: l'N-7 diventa accettore del legame idrogeno

Le strategie antisense e antigene costituiscono degli utili approcci farmacologici diretti, in linea di principio, contro qualsiasi virus o oncogene del cui DNA sia nota la sequenza di basi. In realtà l'applicazione di tali strategie presenta diversi ostacoli, dovuti alla natura stessa degli ODN, i quali per poter essere utilizzati come farmaci devono possedere determinate caratteristiche che ne permettano la somministrazione e che ne assicurino l'efficacia terapeutica. I problemi principali che presentano gli oligonucleotidi di sintesi sono costituiti dalla difficoltà di penetrare le membrane cellulari e dalla rapidità di degradazione ad opera di enzimi idrolitici.

Il problema della penetrazione cellulare è dovuto alla natura poli-anionica dell'oligonucleotide, che non è in grado di attraversare per semplice diffusione le membrane cellulari lipidiche, mentre la stabilità verso gli enzimi idrolitici dipende dalla presenza ed attività di tali enzimi, e dalla velocità relativa con cui l'oligonucleotide è in grado di legarsi al suo bersaglio. Nel siero umano, così come nel citoplasma di vari sistemi

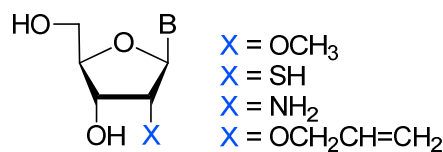
cellulari, le nucleasi sono responsabili della rapida degradazione del DNA e RNA, con tempi di semivita dell'ordine di pochi minuti.

Al fine di superare tali ostacoli, sono stati sintetizzati diversi analoghi nucleotidici recanti modifiche strutturali sull'unità nucleosidica e sul ponte fosfodiesterico.

## 1.2 Oligonucleotidi modificati

Le modifiche apportate sugli oligonucleotidi coinvolgono diversi siti della struttura degli oligonucleotidi standard, e da tali modifiche scaturiscono diverse proprietà chimico-biologiche.

Al fine di incrementare la resistenza alle nucleasi, e nel contempo aumentare l'affinità di legame per l'*m*RNA bersaglio sono stati messi appunto oligonucleotidi modificati sull'unità 2'-deossiribosidica o ribosidica.<sup>6</sup> Le modifiche comprendono la sostituzione dell'atomo di idrogeno nel caso del DNA, o del gruppo ossidrilico, per l'RNA, con gruppi amminici, metossilici, tiolici o alchilici (Figura 1.5).<sup>7</sup>

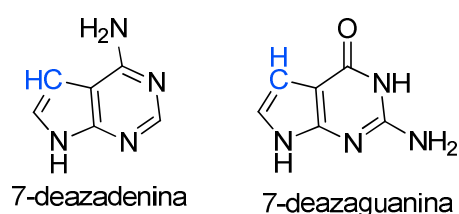


**Figura 1.5:** Modifiche su C-2'

Per i 2'-alchilderivati, dalla natura del gruppo alchilico dipende sia la capacità di ibridizzazione con DNA e RNA, che la resistenza enzimatica. In particolare, la grandezza del sostituito in 2' contribuisce in maniera inversamente proporzionale alla capacità dell'ODN di legare l'RNA o il DNA target, ed in maniera direttamente proporzionale alla resistenza nei confronti delle nucleasi. Un lato negativo degli alchilderivati è dovuto al fatto che non riescono ad attivare le RNAsiH<sup>8</sup> e quindi a sfruttare questo meccanismo per esplicare l'attività antisense. Per ovviare a ciò sono stati sintetizzati i cosiddetti “*mixed backbone oligonucleotides*” (MBO) costituiti da nucleotidi RNA-2'*O*-modificati all'estremità della catena e da un *core* di DNA capace di attivare l'RNAsiH.

Un ulteriore tipo di sostituzione riguarda la base azotata del nucleotide. Le modifiche alla base azotata possono essere di vario tipo e comprendono l'introduzione di sostituenti, l'allargamento o la contrazione degli anelli. Un requisito importante di un ON antisense o antigene è che esso interagisca con alta affinità e specificità con il filamento bersaglio. Le principali forze stabilizzanti nella formazione di una struttura duplex sono legami ad

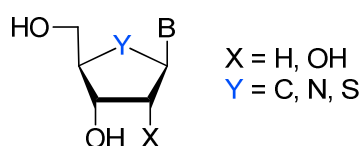
idrogeno ed interazioni idrofobiche tra le basi. Pertanto modifiche della base che aumentano il numero di accettori o donatori di legami ad idrogeno o aumentano l'area  $\pi$  possono migliorare l'affinità di legame.<sup>9</sup> Anche una piccola modifica può produrre un effetto drammatico in quanto può variare la dimensione, la distribuzione elettronica, la struttura tautomerica o il valore di pKa dei gruppi funzionali (Figura 1.6).<sup>10</sup>



**Figura 1.6:** Basi azotate modificate

L'azoto in posizione 7 nelle purine è posizionato nel solco maggiore del DNA in forma B ed è un potenziale accettore di legami ad idrogeno.<sup>11</sup> È stato evidenziato che oligonucleotidi contenenti 7-deazapurine destabilizzano la doppia elica del DNA poiché alterano le interazioni di tipo *stacking* tra le basi.<sup>12</sup>

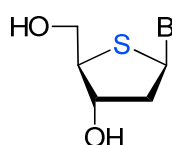
Sono state apportate modifiche anche sull'eteroatomo in posizione 4' dell'anello furanico presente negli acidi nucleici naturali. L'ossigeno è stato sostituito con un gruppo metilenico, con un atomo di azoto e di zolfo (Figura 1.7).



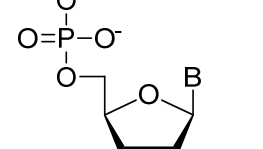
**Figura 1.7:** Modifiche sull'eteroatomo in 4'

La prima sintesi di 4'-tio-2'-desossinucleosidi è stata realizzata nel 1991, da due gruppi di ricerca indipendenti Walker e coll e Secrist e coll.<sup>13</sup>

I nucleosidi modificati sono stati, in seguito, polimerizzati per formare catene oligonucleotidiche di DNA,<sup>14</sup> che hanno mostrato interessanti caratteristiche che li rendono utili come agenti antisense (Figura 1.8).<sup>15</sup>



**Figura 1.8:** 4'-tionucleosidi



$W = O, Z = SH$       fosforotioati  
 $W = S, Z = SH$       fosforoditioati  
 $W = O, Z = Me$       metilfosfonati  
 $W = O, Z = NR_2$       fosforoamidati

$X = H, OH$

La principale conseguenza che deriva da queste modifiche, è l'introduzione di uno stereocentro sull'atomo di fosforo e poiché la molecola possiede altri centri chirali ne derivano diastereoisomeri con caratteristiche chimico-fisiche e biologiche distinte, di conseguenza saranno in grado di interagire diversamente con il proprio target. Se da un lato questo potrebbe essere un vantaggio poiché permette di ottenere composti con diversa selettività, dall'altro lato, poiché vengono sintetizzati più facilmente come miscele diastereomeriche, si ha un effetto negativo sull'affinità di legame con gli acidi nucleici complementari, poiché molto spesso una specifica configurazione determina una destabilizzazione dei complessi formati con gli acidi nucleici.

6

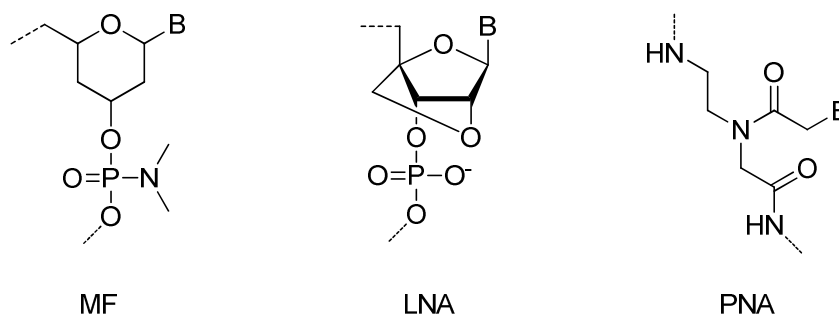
stati utilizzati la prima volta nel 1987 come potenziali inibitori del virus HIV<sup>22</sup>, riuscendo a bloccare la traduzione tramite l'attivazione della RNAsiH, ma il primo grande successo è stato ottenuto nel 1998 quando la FDA ha approvato il Vitravene<sup>TM</sup> (Figura 1.10), un oligonucleotide di 22 basi con legami fosforotioato, come primo farmaco antisense usato per la cura della retinite causata da *Citomegalovirus* (CMV).



**Figura 1.10:** Vitravene<sup>TM</sup>

Dopo la scoperta dei vantaggi del ponte fosforotioato, sono stati sintetizzati diversi analoghi come i fosforoditioati<sup>23</sup> dove entrambi gli atomi di ossigeno non a ponte sono sostituiti da due atomi di zolfo. Questi ultimi presentano il vantaggio di non essere chirali al fosforo, e quindi non hanno problemi di risoluzione di diastereoisomeri nella sintesi. Un'altra promettente classe di ODN sono i fosforoamidati<sup>24</sup>, derivati achirali che presentano un'elevata affinità di legame per l'RNA anche se hanno lo svantaggio di avere un legame instabile in ambiente acido.

Esiste, infine, un gruppo più eterogeneo di ODN, dove sono state apportate modifiche più radicali all'intero dello scheletro polinucleotidico (Figura 1.11).

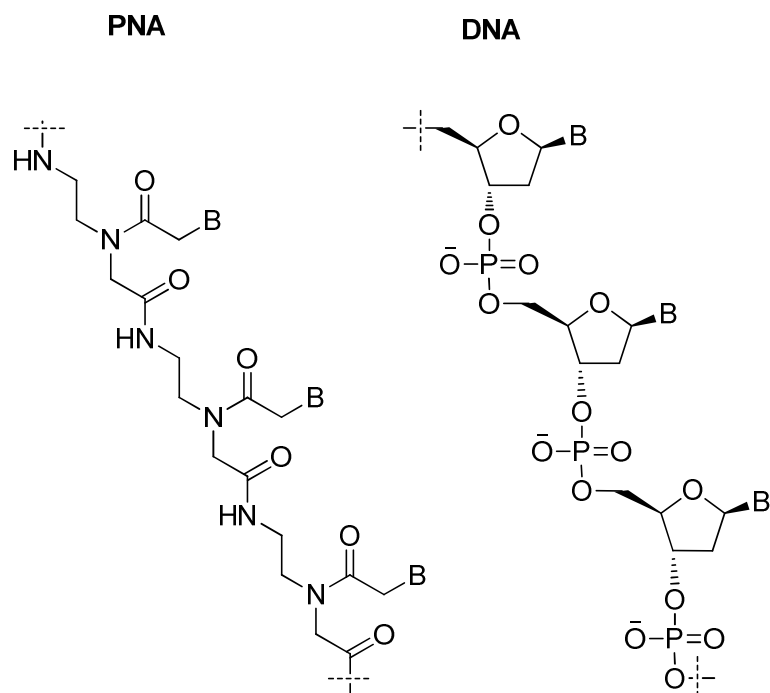


**Figura 1.11:** Morfolino fosforoamidati (MF), Acidi Nucleici Bloccati (LNA), Acidi Nucleici Peptidici (PNA)

Tra le classi principali ricordiamo i morfolino fosforoamidati (MF), analoghi del DNA non ionici, in cui il desossiribosio è rimpiazzato da un anello morfolinico, mentre il legame fosfodiesterico, da uno fosforoamidato. Essi presentano un'ottima capacità di ibridizzare con gli acidi nucleici, sono resistenti alle nucleasi<sup>25</sup>, ma non attivano l'RNasiH.<sup>26</sup> Gli oligo-LNA<sup>27</sup> o acidi nucleici bloccati sono analoghi dell'RNA, sintetizzati per la prima volta nel 1998 e contenenti un ponte metilenico che connette l'ossigeno 2' del ribosio con il carbonio 4'. Tali oligomeri presentano oltre alle proprietà degli oligo-MF anche la capacità di attivare l'enzima RNasiH<sup>28</sup>. L'ultima classe di ODN modificati, che sarà oggetto di questo lavoro di tesi, è costituita dagli acidi nucleici peptidici o PNA<sup>29</sup>.

### 1.3 Acidi Nucleici Peptidici (PNA)

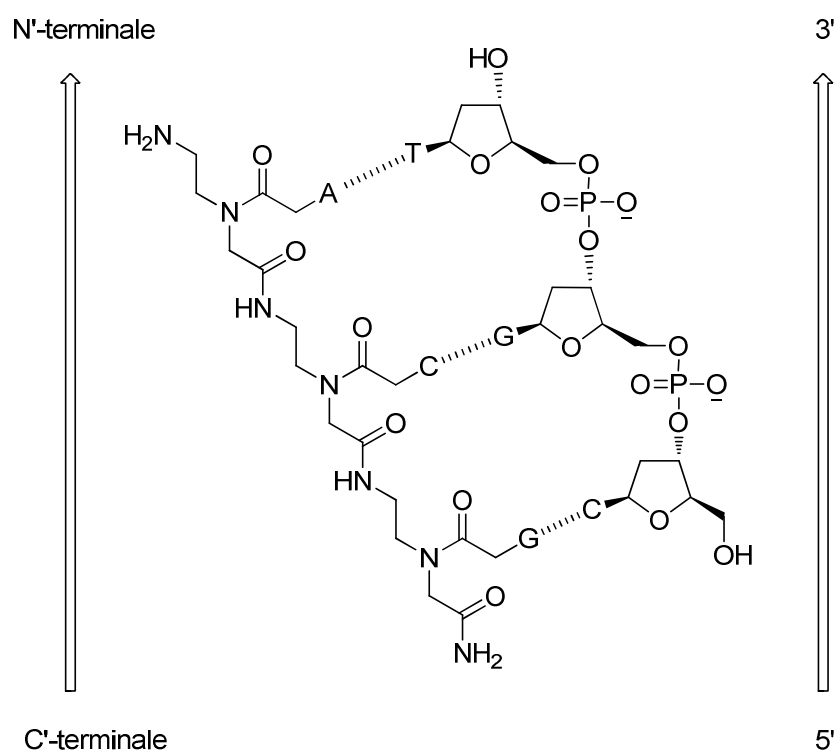
Gli acidi nucleici peptidici (PNA), descritti per la prima volta da Nielsen nel 1991<sup>30</sup>, sono oligonucleotidi modificati in cui lo scheletro zucchero-fosfato è sostituito da unità di *N*-(2-amminoetil)-glicina, legate tra di loro mediante legame peptidico.



**Figura 1.12:** Confronto tra la struttura del PNA e DNA

In Le basi puriniche e pirimidiniche sono legate all'azoto dell'unità amminoacidica attraverso un metilen carbonile (Figura 1.12).<sup>31</sup> questo modo, l'unità ripetitiva consiste di sei atomi, esattamente come nel DNA e RNA, e le basi azotate mantengono tra loro la stessa distanza delle basi nel DNA naturale, per cui sono in grado di riconoscere le basi complementari su filamenti di DNA e RNA .Per convenzione, il PNA viene rappresentato

come un peptide, vale a dire con l'estremità *N*-terminale rivolta verso l'alto e l'estremità *C*-terminale verso il basso. A differenza del DNA e dell'RNA, il PNA riconosce e lega filamenti complementari in entrambe le orientazioni, parallela e antiparallela. Nell'ibridazione di tipo antiparallelo l'estremità *N*-terminale del PNA lega il 3' del filamento di DNA mentre l'estremità *C*-terminale si appaia con il 5'. L'esatto contrario avviene nell'ibridazione di tipo parallelo, tuttavia, l'orientazione antiparallela illustrata in Figura 1.13 è preferita dagli acidi nucleici peptidici. Il PNA è in grado di ibridarsi con il DNA formando sia doppie che triple eliche in base alla composizione delle basi azotate del filamento bersaglio.



**Figura 1.13:** ibridazione tra catene complementari PNA-DNA in orientazione antiparallela

Per la formazione della tripla elica, che avviene solo con tratti omopurinici del DNA, vengono instaurati legami ad idrogeno di tipo Watson-Crick e anche di tipo Hoogsteen. I PNA aprono la doppia elica del DNA e spiazano il filamento complementare, formando una struttura definita “*P-loop*”, in un processo chiamato “*Strand Invasion*”.<sup>32</sup>

In particolare, un primo filamento di PNA va a legare il filamento omopurinico di DNA con riconoscimento delle basi secondo Watson-Crick e con orientamento antiparallelo; successivamente, un secondo filamento di PNA si ibrida allo stesso filamento



omopurinico di DNA in modo parallelo, mediante legami di tipo Hoogsteen con conseguente formazione di una tripla elica locale (PNA)<sub>2</sub>/DNA. La stabilità termica della triplex è molto alta ( $T_m = 73\text{ °C}$  per un PNA T<sub>10</sub>) e dipende dalla lunghezza dell'oligomero (si registra un aumento di circa 10°C per base)<sup>33</sup>. Tuttavia, in condizioni fisiologiche di concentrazione salina e pH, la formazione del complesso è piuttosto lenta e richiede la protonazione della citosina in posizione N-3 per la formazione dei legami di tipo Hoogsteen con gli N-7 dei residui di guanina.

### ***1.3.1 Applicazioni terapeutiche***

Grazie alla capacità di ibridazione con gli acidi nucleici naturali, i PNA rappresentano attraenti targets sintetici per il trattamento di malattie che usano terapie antigene e antisense.

Il primo tentativo di impiego di PNA come inibitori della sintesi proteica è stato realizzato con successo nel 1992,<sup>34</sup> quando è stata dimostrata la loro azione antisense realizzata attraverso effetti di ingombro sterico, poiché i PNA non sono substrato per l'enzima RNAsiH.<sup>35</sup>

L'effetto del PNA come agente antigene, basato sul blocco della trascrizione e conseguente inibizione della crescita del filamento di mRNA dallo stampo di DNA, è realizzato grazie alla loro abilità a formare strutture a tripla elica stabili (PNA)<sub>2</sub>/DNA, mediante *Strand Invasion*, quindi l'applicazione del PNA come agente antigene è limitata a tratti polipurinici del genoma, inoltre l'invasione di una duplex di DNA è piuttosto lenta a concentrazioni saline fisiologiche.

Nonostante la struttura del backbone sia totalmente differente da quella degli acidi nucleici naturali, le proprietà di ibridazione dei PNA non solo sono conservate, ma addirittura potenziate. Infatti, i vantaggi rispetto agli oligonucleotidi comuni derivano dallo scheletro poliammidico che permette una maggiore affinità di legame con il DNA, grazie alla natura non carica, che evita la repulsione elettrostatica. Inoltre, il legame poliammidico conferisce una maggiore biodisponibilità dovuta ad una resistenza in vivo alle nucleasi.

Alla resistenza alla degradazione enzimatica si accompagna, inoltre, una elevata stabilità chimica: molecole di PNA sono stabili in ambiente fortemente acido e, a differenza di quanto si osserva nel DNA, non si hanno fenomeni di depurinazione per trattamento in condizioni acide drastiche<sup>36</sup>.

In virtù della loro alta stabilità chimica e biologica, i PNA sono i candidati ideali per la modulazione artificiale dell'espressione genica.

### ***1.3.2 Applicazioni in diagnostica***

I PNA sono tutt'oggi studiati non solo come potenziali agenti terapeutici, ma anche come potenti strumenti in biologia molecolare ed in diagnostica.

I PNA sono stati utilizzati per la rivelazione di sequenze specifiche di DNA in combinazione con molti metodi diagnostici,<sup>37</sup> quali la PCR-clamping,<sup>38</sup> la PCR real-time,<sup>39</sup> l'elettroforesi capillare,<sup>40</sup> la spettrometria di massa MALDI-TOF,<sup>41</sup> e biosensori elettrochimici.<sup>42</sup> Un'interessante applicazione diagnostica è rappresentata dai cosiddetti PNA beacons.<sup>43</sup> Molecular beacons sono molecole recanti un fluoroforo ed un attenuatore di fluorescenza (fluorescence-quencher) alle due estremità di un filamento di acido nucleico. Quando non è ancora ibridizzato, la conformazione dell'acido nucleico è tale che il fluoroforo ed il quencher si vengono a trovare l'uno in prossimità dell'altro, per cui non si ha nessuna emissione di segnale. In seguito al legame con il bersaglio, quindi la formazione della duplex PNA/DNA,<sup>44</sup> la molecola si distende, il fluoroforo ed il quencher si vengono a trovare lontani e si ha pertanto emissione di fluorescenza.<sup>45</sup> Sonde a PNA sono state utilizzate per la rivelazione di una mutazione puntiforme (W1282X) nella fibrosi cistica utilizzando uno strumento BIAcore.<sup>46</sup> Alla vasta applicazione in campo diagnostico si contrappone una scarsa applicazione in campo terapeutico.

### ***1.3.3 Limiti dei PNA***

I limiti nell'utilizzo dei PNA in terapia derivano dallo struttura dello scheletro lineare e neutro (Tabella 1.1).

**Tabella 1.1:** *limiti e soluzioni dei PNA per applicazioni terapeutiche*

<b>LIMITI</b>	<b>SOLUZIONI</b>
Scarsa solubilità in acqua	Introduzione di gruppi cationici nella struttura
Scarsa penetrazione cellulare	Modificazione del logP
Forte tendenza all'aggregazione	Introduzione di restrizioni conformazionali
Uguale capacità di binding in orientazione parallela e antiparallela con DNA e RNA	Introduzione di centri chirali che determinano una struttura univoca
Nessuna selettività di binding DNA/RNA	Preorganizzazione strutturale

La mancanza di cariche nello scheletro, se da un lato migliora l'affinità di binding con DNA e RNA, poiché privo delle repulsioni elettrostatiche, dall'altro lato, causa scarsa solubilità nei mezzi biologici e, di conseguenza, basso livello di penetrazione nelle cellule.

E' stato osservato che la solubilità del PNA diminuisce all'aumentare della lunghezza dell'oligomero e del rapporto purine:pirimidine.<sup>47</sup> Per migliorare la solubilità degli oligomeri di PNA è possibile coniugare molecole cariche quali amminoacidi ad una delle due estremità, oppure utilizzare monomeri di PNA modificati in cui l'unità di glicina sia sostituita da amminoacidi con catene laterali cariche. Chimere PNA-DNA<sup>48</sup> sono state altresì disegnate, da una parte per migliorare il basso uptake cellulare e la bassa solubilità, dall'altra per ottenere molecole con proprietà strutturali e biologiche tipiche del DNA. Una grande varietà di sistemi di trasporto cellulare sono stati messi a punto e testati sperimentalmente.

La prima generazione di vettori sviluppata sono stati i liposomi. L'acido nucleico può essere facilmente incapsulato all'interno del liposoma, che contiene un compartimento acquoso, oppure può essere legato alla superficie mediante interazioni elettrostatiche. L'internalizzazione di tali sistemi avviene con meccanismo di endocitosi; per evitare i risultanti problemi di compartimentalizzazione, può essere conveniente modulare la permeabilità della membrana plasmatica generando, ad esempio, una permeabilizzazione transiente e consentire, così, all'oligonucleotide di entrare in cellula per diffusione. Tale approccio coinvolge la formazione di pori transienti nella membrana, indotti chimicamente,<sup>49</sup> meccanicamente,<sup>50</sup> oppure mediante elettroporazione.<sup>51</sup> Questi metodi non sono applicabili in vivo, poiché implicano una rottura della membrana cellulare. In alcuni lavori è stato anche riportato il trasporto diretto in cellula di PNA senza ricorso ad alcuno dei protocolli sopra citati.<sup>52</sup> Tuttavia, in tal caso, le elevate concentrazioni di PNA che si è costretti ad utilizzare (20  $\mu$ M) aumentano fortemente il rischio di effetti tossici. Legare covalentemente PNA a frammenti di molecole che sono riconosciute dalle cellule rappresenta un'alternativa alle tecniche di traslocazione standard sopra menzionate, basata su un meccanismo di endocitosi mediata da recettori. La coniugazione con il diidrotestosterone, ad esempio, si è rivelata un buon metodo per la veicolazione di PNA in cellule di carcinoma prostatico.<sup>53</sup>

Se da un lato il trasporto mediato da recettore è un processo ad elevata specificità, dall'altro lato, tuttavia, può risultare poco efficace, probabilmente a causa della quantità limitata di recettori disponibili sulla superficie della cellula e dell'intrappolamento del materiale da trasportare negli endosomi/lisosomi.<sup>54</sup> Una strategia relativamente nuova per

il trasporto cellulare di macromolecole trae origine dalla scoperta che alcune proteine, come la proteina *Tat* del virus HIV<sup>55</sup> sono capaci di passare dall'ambiente extracellulare all'interno della cellula senza endocitosi mediata da recettore. Tali proteine presentano in determinati punti della loro sequenza amminoacidica particolari gruppi di amminoacidi riconosciuti da specifici recettori presenti nella membrana e ciò fa scattare i meccanismi, ancora poco conosciuti, che portano al trasferimento della proteina all'interno del compartimento designato.<sup>56</sup> Di qui, l'idea di sintetizzare chimicamente i peptidi corrispondenti alle rispettive regioni di tali proteine e di coniugarli alle molecole da trasportare. Per la loro capacità di attraversare la membrana cellulare, tali peptidi sono stati definiti "*Cell-Penetrating Peptides*" (CPP). Sebbene i risultati sperimentali sinora ottenuti indichino i CPP come un promettente strumento per future applicazioni farmaceutiche, ulteriori studi sono necessari al fine di delucidare il meccanismo di traslocazione attraverso il quale tali molecole sono introdotti all'interno della cellula, che risulta ancora oggetto di dibattiti. Inoltre le potenzialità terapeutiche dei coniugati PNA-peptide sono limitate dal fatto che frammenti peptidici, anche se legati covalentemente al PNA, hanno bassa stabilità nei fluidi biologici e sono inevitabilmente soggetti a degradazione enzimatica.<sup>57</sup>

In conclusione, ad oggi non esiste un metodo totalmente efficiente di trasporto per gli acidi nucleici peptidici, che può essere sfruttato a livello terapeutico.

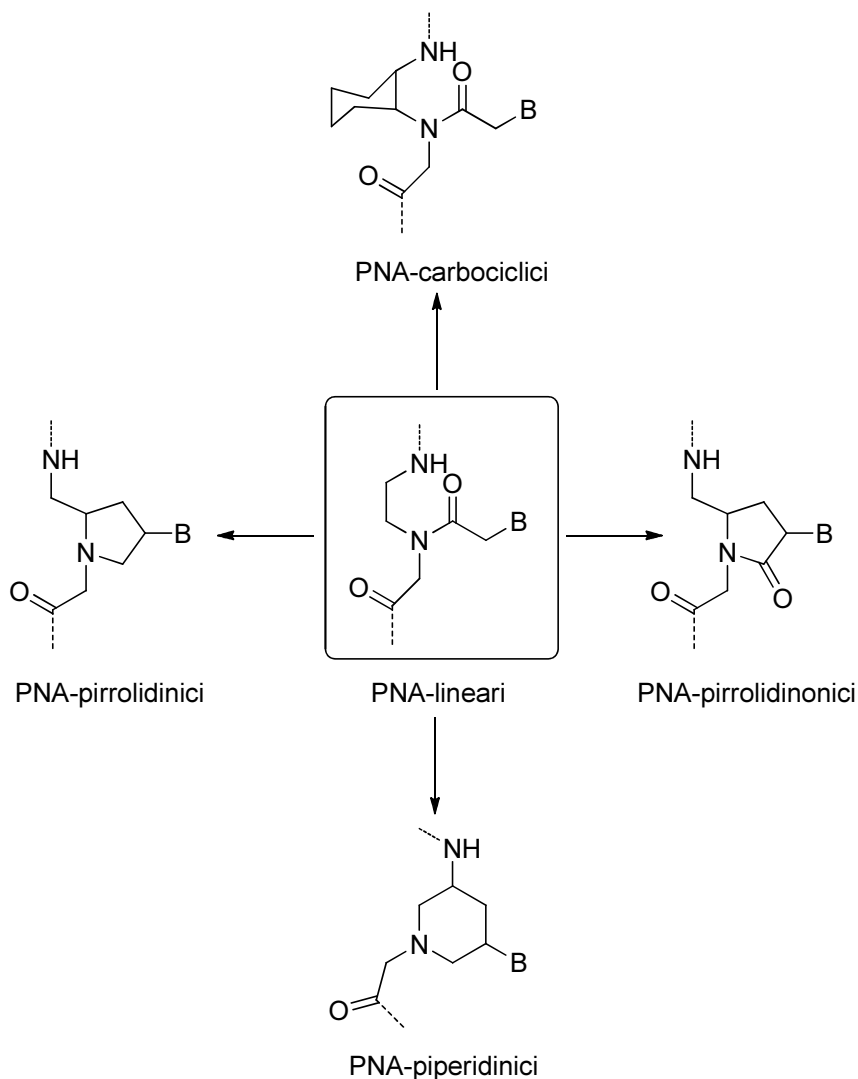
Dalla struttura lineare dei PNA deriva inoltre una forte tendenza all'aggregazione e nessuna selettività di binding DNA/RNA. I PNA non riescono a discriminare filamenti di DNA da quelli dell'RNA, inoltre si possono legare ad entrambi nell'orientamento parallelo e antiparallelo. Ciò fa sì che tali oligonucleotidi di sintesi non possono essere utilizzati con elevata specificità, requisito necessario per le applicazioni terapeutiche.

Per superare i limiti appena descritti sono stati progettati analoghi di PNA modificati allo scopo di generare una selettività di binding e di aumentare la solubilità nei mezzi biologici.

#### ***1.3.4 PNA ciclici***

Sono stati progettati diversi PNA rigidi al fine di indurre una preorganizzazione strutturale dell'oligomero, nella giusta conformazione di binding agli acidi nucleici naturali ed inoltre per rendere più selettivo il riconoscimento PNA/DNA e PNA/RNA. La ciclizzazione provoca la formazione di centri chirali che influenzano notevolmente la specificità di legame. Kumar e coll.<sup>58</sup> hanno sintetizzato una serie di PNA ciclici ed hanno

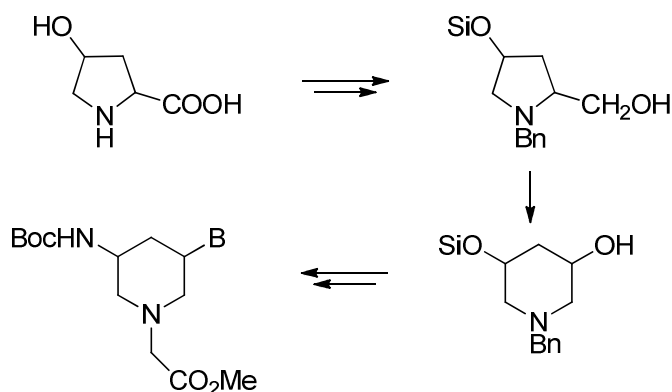
testato sia le proprietà di ibridazione con DNA e RNA, che la variazione di solubilità in acqua (Figura 1.14).



**Figura 1.14:** PNA ciclici

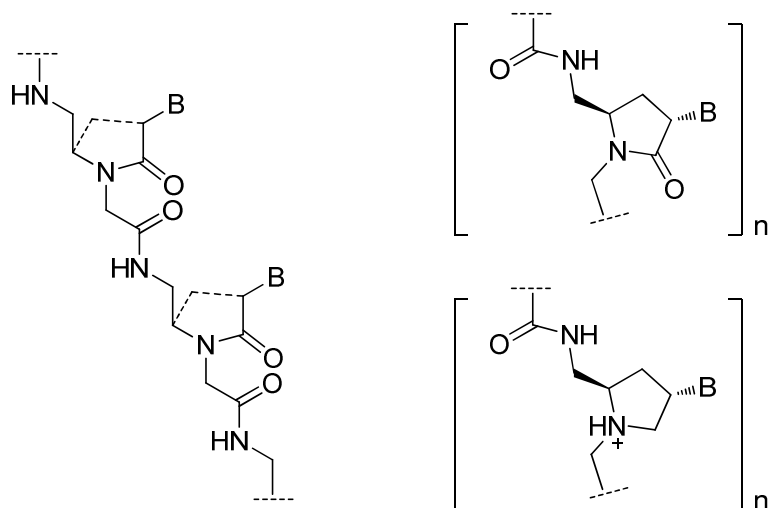
Tra i composti sintetizzati solo i PNA-carbociclici hanno dato risultati negativi, poiché la struttura carbociclica destabilizza le doppie eliche PNA/DNA e non provoca miglioramenti nella solubilità in acqua, a causa di un ulteriore aumento della lipofilia della molecola. I restanti derivati, azotati a cinque e sei termini, hanno invece mostrato interessanti proprietà. In tutti e tre i casi la struttura ciclica contenente l'atomo di azoto provoca la formazione di duplex e triplex stabili, inoltre, in molti casi, è stata rivelata una certa selettività di binding DNA/RNA, dipendente anche dalla configurazione assoluta dei centri chirali presenti nelle strutture. Per quanto riguarda le proprietà acido-base, nei derivati pirrolidinici e piperidinici è stata riscontrata un aumento di solubilità poiché l'azoto basico viene protonato a pH fisiologico.

La maggior parte delle sintesi descritte in letteratura utilizza come prodotto di partenza la *trans*-4-idrossiprolina, disponibile in commercio. Anche i derivati a sei termini, sono stati sintetizzati dal derivato amminoacidico, attraverso reazioni di espansione dell'anello a cinque termini (Figura 1.15).



**Figura 1.15:** Sintesi di PNA ciclici a 6 termini

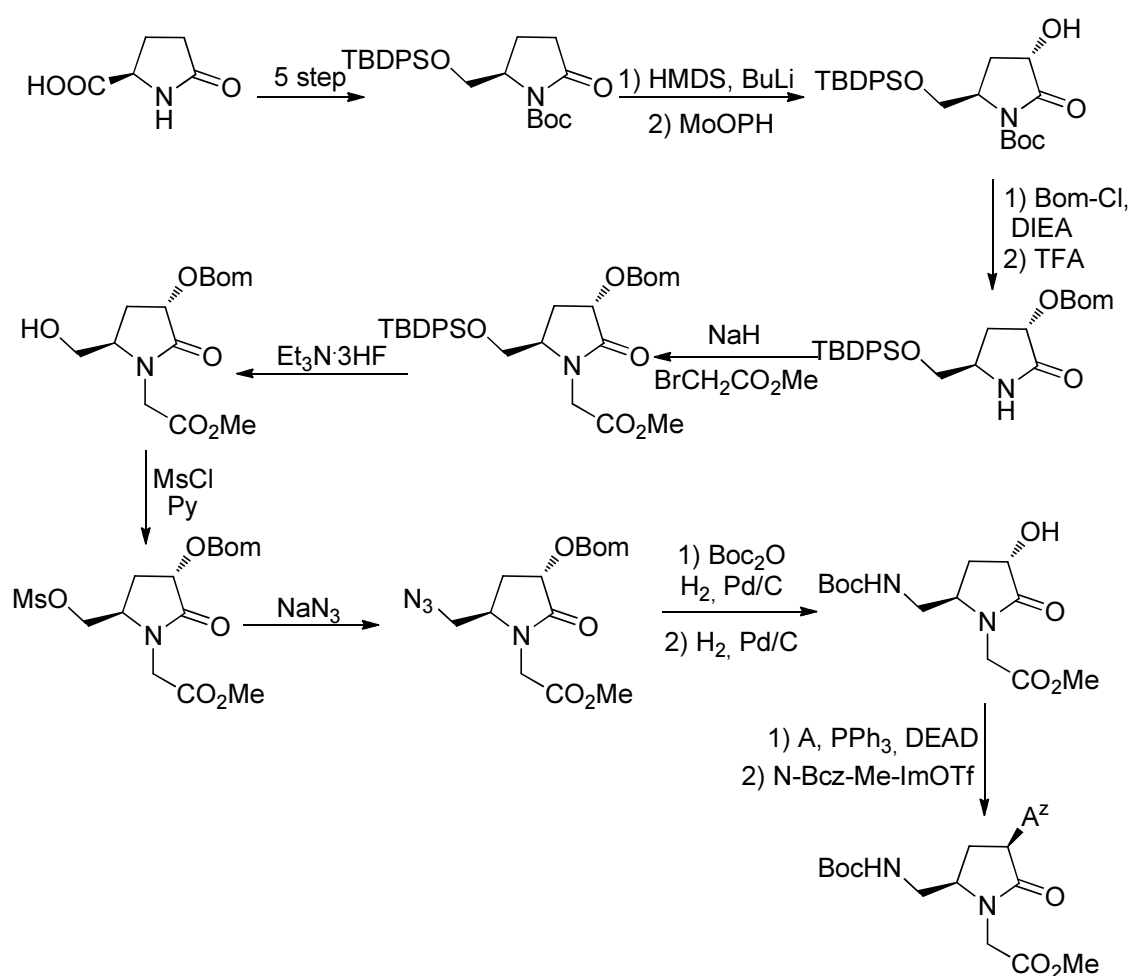
I PNA ciclici maggiormente descritti in letteratura sono, comunque, quelli contenenti un anello a cinque termini, quindi con restrizioni conformazionali che derivano dalla presenza di un ponte etilenico tra la catena amminoetilglicinica e il carbonio adiacente alla base eterociclica (Figura 1.16).



**Figura 1.16:** PNA ciclici a 5 termini

Nielsen e coll.<sup>59</sup> hanno ottenuto il primo derivato contenente restrizioni conformazionali, contenente un anello pirrolidinonico, a partire dall'acido piroglutammico (Schema 1.1).

Il monomero ciclico, a differenza dei PNA lineari, presenta due stereocentri, ed al fine di valutare l'importanza di tali centri chirali, sono stati sintetizzati i quattro possibili stereoisomeri, dei quali è stata testata l'affinità di binding nei confronti degli acidi nucleici. Ognuno dei quattro stereoisomeri sintetizzati, è stato incorporato in un decamero di PNA, ed è stata valutata la stabilità termica dei complessi formati con filamenti di oligonucleotidi complementari, comparandola con quella di oligomeri di PNA lineari. Il complesso più stabile è stato ottenuto con il decamero contenente il monomero (3*S*,5*R*). La differenza di stabilità dei vari complessi dimostra l'elevata influenza della configurazione dei centri chirali sul legame con DNA e RNA.

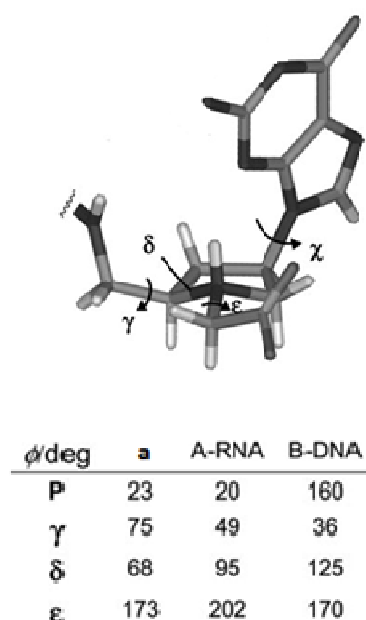


**Schema 1.1**

I polimeri di PNA contenenti anelli pirrolidinonici, presentano una maggiore rigidità strutturale rispetto ai PNA lineari, che consente una elevata affinità di binding nei confronti del DNA. Un ulteriore miglioramento delle proprietà dei PNA ciclici rispetto a quelli lineari, che comprende la capacità di discriminare tra i due acidi nucleici naturali, cioè

selettività di binding DNA/RNA, ed altresì, un miglioramento delle proprietà farmacocinetiche, è stato raggiunto con la sintesi di anelli pirrolidinici. I monomeri pirrolidinici, presentano nell'anello un atomo di azoto che, rispetto a quello presente negli eterocicli derivati dal pirrolidinone, dove è impiegato in un legame amidico, è molto più basico, di conseguenza a pH fisiologico è protonato. Ciò genera un aumento di solubilità in acqua<sup>60</sup> e di conseguenza nei mezzi biologici. I polimeri di pirrolidine, conosciuti con il nome di oligonucleotidi pirrolidin ammidici (POM) presentano una elevata forza di legame con gli acidi nucleici naturali poiché intervengono attrazioni elettrostatiche tra la catena positiva dei POM e la catena carica negativamente degli acidi nucleici presenti nell'organismo.<sup>61</sup>

I polimeri di POM, sintetizzati da diversi gruppi di ricerca,<sup>62</sup> hanno mostrato una selettività di binding verso l'RNA rispetto al DNA. Nella seguente Figura 1.17 si vede come i POM si organizzano in una struttura simile alla doppia elica A-RNA, dimostrato dai valori degli angoli torsionali, molto simili a quelli dell'RNA, piuttosto che a quelli del DNA. Ciò suppone che l'elevata affinità dei POM per l'RNA è in parte dovuta alla formazione di eteroduplex più stabili, rispetto a quelle formate con il DNA, conseguenza di una preorganizzazione dell'oligomero di POM in una tipica A-elica simile a quella dell'RNA.

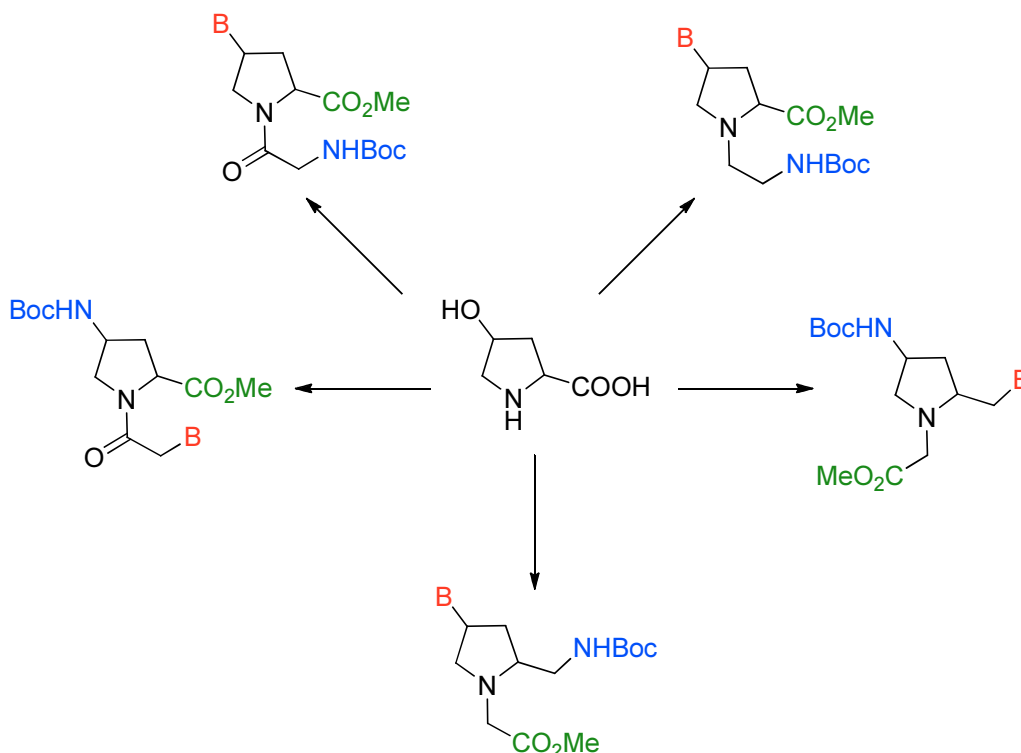


**Figura 1.17:** Struttura a raggi X della forma zwitterionica del monomero di POM che mostra una conformazione N<sup>1</sup>-endo con gli angoli torsionali P,  $\gamma$ ,  $\delta$  ed  $\epsilon$  più simili a quelli del ribosio in una tipica A-RNA duplex, rispetto a quelli di una B-DNA duplex.



Sono stati sintetizzati numerosi monomeri pirrolidinici, distinti dalla diversa posizione dei gruppi amminico e carbossilico sulla molecola, inseriti, in ogni caso, su posizioni che lasciano inalterata la giusta distanza tra le basi necessaria per la formazione di legami con DNA e RNA (Figura 1.18).

Le strategie sintetiche utilizzate per l'ottenimento di tali composti, sono fondamentalmente basate su una serie di trasformazione di gruppi funzionali, inseriti nello scheletro della *trans*-4-idrossiprolina, e ciò comporta, inevitabilmente, un'ulteriore serie di reazioni di protezione/deprotezione dei gruppi funzionali che non devono essere coinvolti in una specifica reazione. Da ciò derivano lunghe strategie sintetiche da applicare per la sintesi dei monomeri finali.



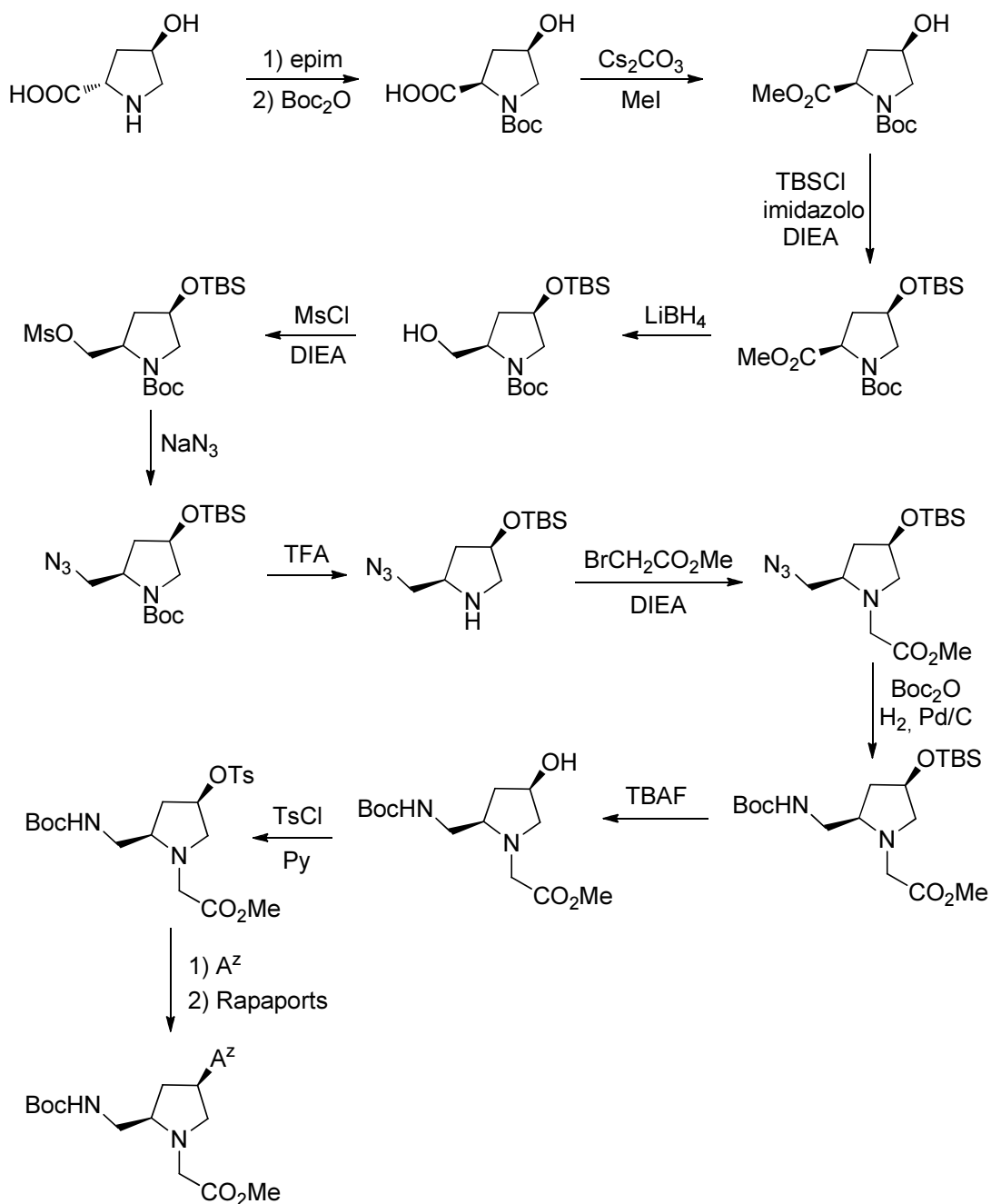
**Figura 1.18** PNA ciclici a 5 termini derivati dalla 4-idrossiprolina

Un esempio è la sintesi di un monomero pirrolidinico ottenuto da Nielsen e coll.<sup>63</sup> a partire dalla *trans*-4-idrossiprolina.

La sintesi realizzata coinvolge 14 steps, ed ha condotto al monomero finale con una resa globale del 2,8 % (Schema 1.2).

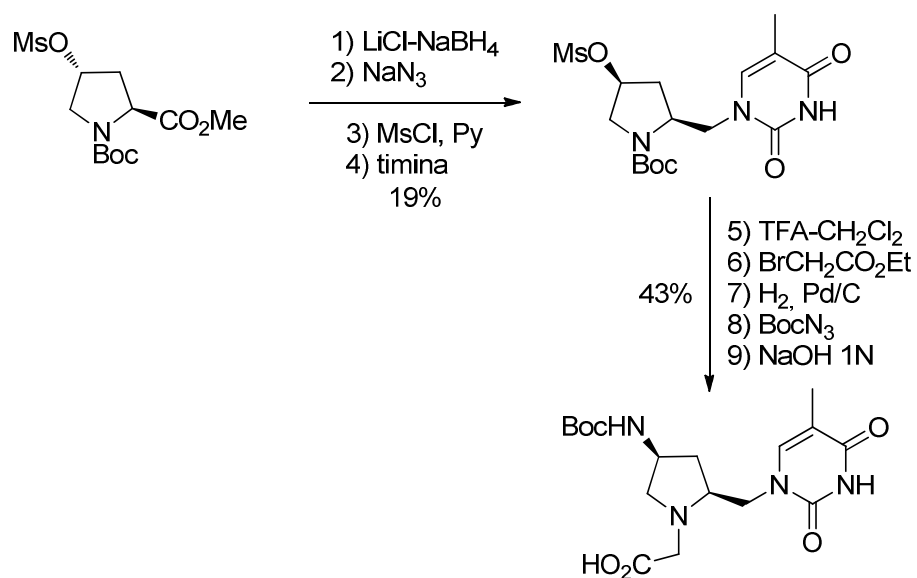
Anche in questo caso per la presenza di due centri chirali, sono stati sintetizzati i quattro stereoisomeri possibili, in seguito incorporati in oligomeri di PNA. Attraverso

saggi di binding è stata valutata la capacità di ibridazione dei vari oligomeri, e l'isomero (3*S*,5*R*) è risultato avere la maggiore affinità di binding.



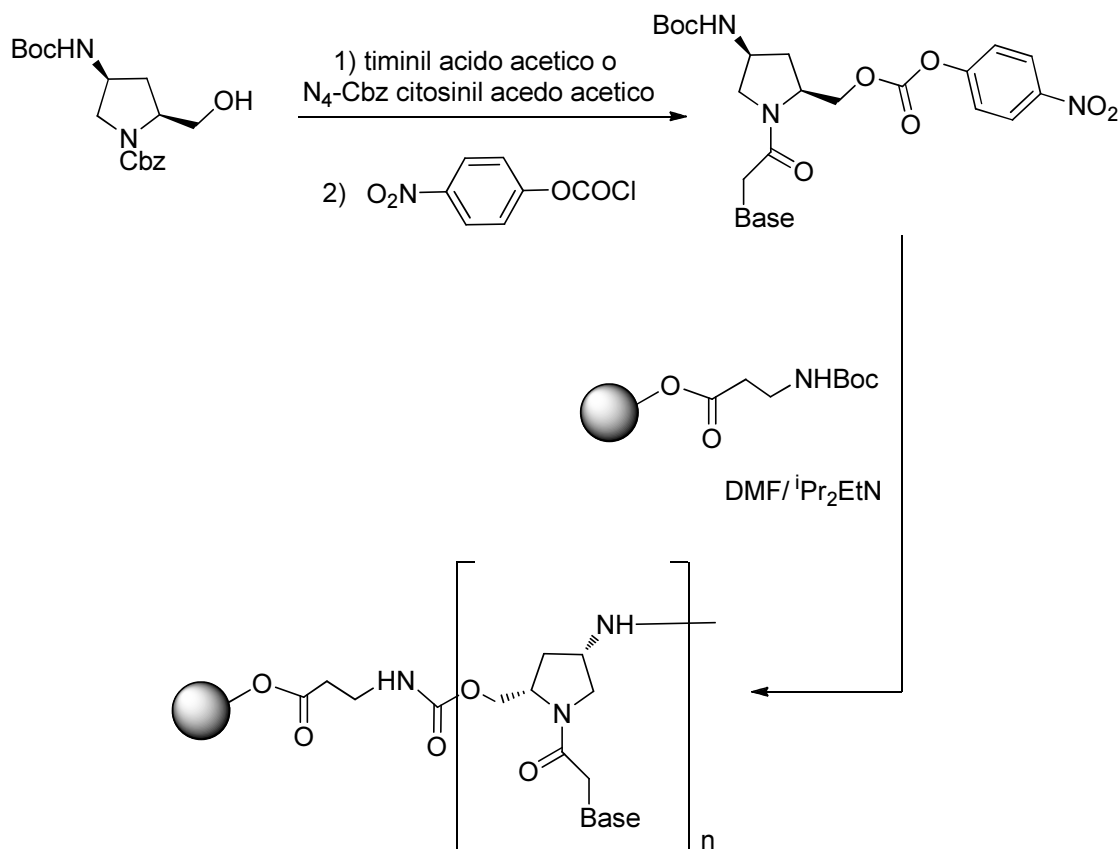
Schema 1.2

La *trans*-4-idrossiprolina è stata utilizzata anche da Ganesh e coll.<sup>64</sup> che hanno ottenuto una pirrolidina contenente la base azotata in posizione 2, in 9 steps e con una resa globale dell'8.2% (Schema 1.3).



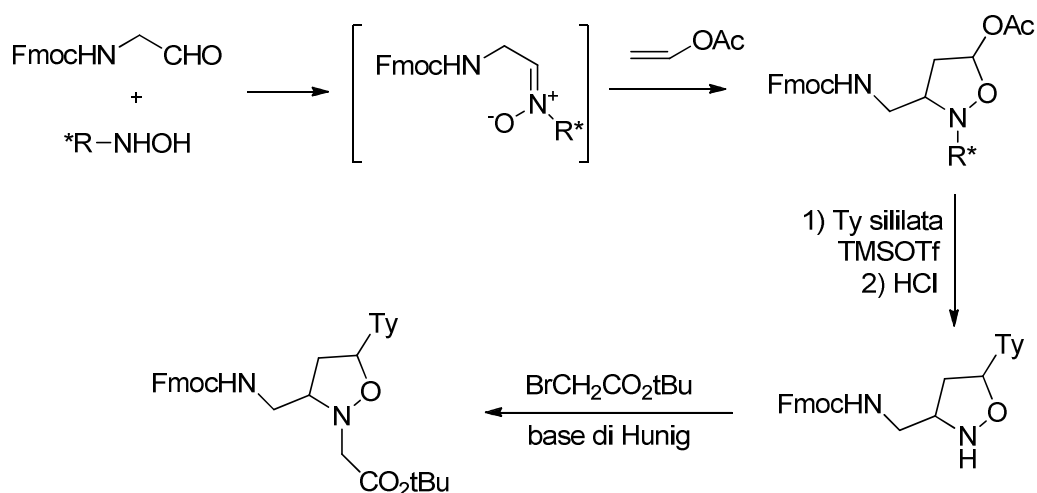
**Schema 1.3**

Utilizzando una simile strategia, Kumar e coll.<sup>65</sup> hanno sintetizzato monomeri pirrolidinici con una resa globale del 27%, in seguito polimerizzati utilizzando la sintesi dei peptidi in fase solida (Schema 1.4).



**Schema 1.4**

Una nuovo tipo di monomeri ciclici di PNA è stata realizzata da Merino e coll.<sup>66</sup> che hanno inserito un anello isossazolidinico come eterociclo nei PNA modificati (Schema 1.5). L'ossigeno endociclico potrebbe aumentare la basicità dell'anello eterociclico, mantenendo una buona idrofilicità. I valori calcolati di cLogP per tali composti (cLogP = -2.73) dimostrano che le proprietà acido-base dei monomeri isossazolidinici risultano essere intermedie tra gli anelli pirrolidinonici (cLogP = -3.12) e pirrolidinici (cLogP = -1.95).



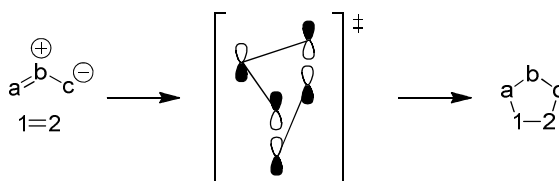
**Schema 1.5**

La strategia sintetica utilizzata prevede una cicloadizione 1,3-dipolare, che permette una riduzione degli steps necessari a raggiungere il monomero finale, poiché la funzione amminica, necessaria alla successiva polimerizzazione negli oligomeri di PNA, viene introdotta in un solo step, evitando tutta la serie di reazioni di protezione/deprotezione impiegate nelle sintesi che partono dalla *trans*-4-idrossiprolina, precedentemente esposte, che risultano lunghe e laboriose. Inoltre con l'utilizzo di idrossilammine chirali, si ottengono dei monomeri otticamente puri, sui quali si possono definire le proprietà di ibridazione con DNA e RNA.

## 2. Cicloaddizioni 1,3 dipolari

Le reazioni di cicloaddizione 1,3-dipolare (1,3-DC) sono delle reazioni pericicliche, reazioni chimiche concertate, dove la rottura e la formazione dei legami avviene in un singolo step, con la formazione di uno stato di transizione ciclico. In particolare, la cicloaddizione 1,3-dipolare viene definita del tipo  $(4\pi + 2\pi)$  poiché coinvolge sistemi insaturi  $2\pi$ , detti dipolarofili, e 1,3-dipoli, specie dipolari caratterizzate da quattro elettroni  $\pi$  distribuiti su 3 atomi, dei quali, almeno uno è diverso dal carbonio.

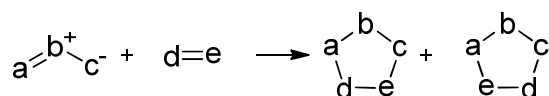
La cicloaddizione prevede la formazione concertata e sincrona di legami tra gli atomi esterni del dipolo e quelli 1 e 2 del dipolarofilo disposti su piani paralleli in modo da permettere la sovrapposizione ideale degli orbitali di frontiera (HOMO-LUMO) che sfocia nella formazione dei nuovi legami (Figura 2.1).



**Figura 2.1:** *Meccanismo concertato delle 1,3-DC*

L'energia di attivazione del processo decresce al diminuire del gap energetico tra gli orbitali molecolari di frontiera, condizione che ne permette una rapida ed efficace sovrapposizione.<sup>67</sup>

In linea di principio, le reazioni che coinvolgono 1,3-dipoli e dipolarofili non simmetrici, possono dare luogo a due regioisomeri (schema 2.1).

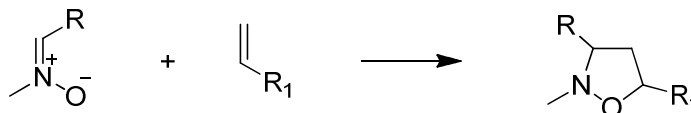


**Schema 2.1:** *Formazione di una coppia di regioisomeri*

Se non intervengono fattori sterici particolarmente importanti, la regiochimica della reazione è sotto il controllo degli orbitali molecolari di frontiera ed altamente selettiva, poiché a legarsi sono gli atomi che hanno i coefficienti orbitalici, espressione della loro densità elettronica, più grandi, e questi cambiano in funzione degli orbitali considerati.

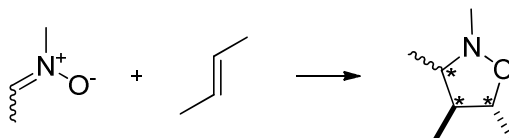
In realtà la regioselettività dipende fortemente da fattori sterici ed elettronici dei substrati coinvolti, e può essere predetta non solo sulla base della teoria degli orbitali

molecolari di frontiera (FMO), ma analizzando le proprietà steriche ed elettroniche dei sostituenti presenti sui substrati. Molto spesso si assiste alla formazione di un unico cicloaddotto, ad esempio, nella reazione tra nitroni ed alcheni monosostituiti si forma generalmente solo l'isossazolidina 5-sostituita (Schema 2.2).



**Schema 2.2:** Sintesi regioselettiva di isossazolidine 5-sostituite

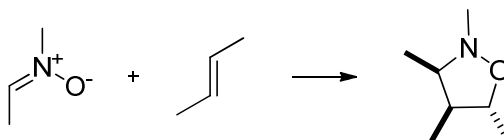
Nella reazione di cicloaddizione 1,3-dipolare, tra nitroni ed alcheni, con formazione di isossazolidine, si possono formare tre nuovi centri chirali contigui (Schema 2.3).



**Schema 2.3:** Formazione di 3 centri chirali

La stereochimica relativa al C<sub>4</sub> ed al C<sub>5</sub> è controllata soprattutto dalle caratteristiche geometriche dei sostituenti presenti sull'alchene, mentre la stereochimica al C<sub>3</sub> è controllata dalle caratteristiche geometriche del nitrone.

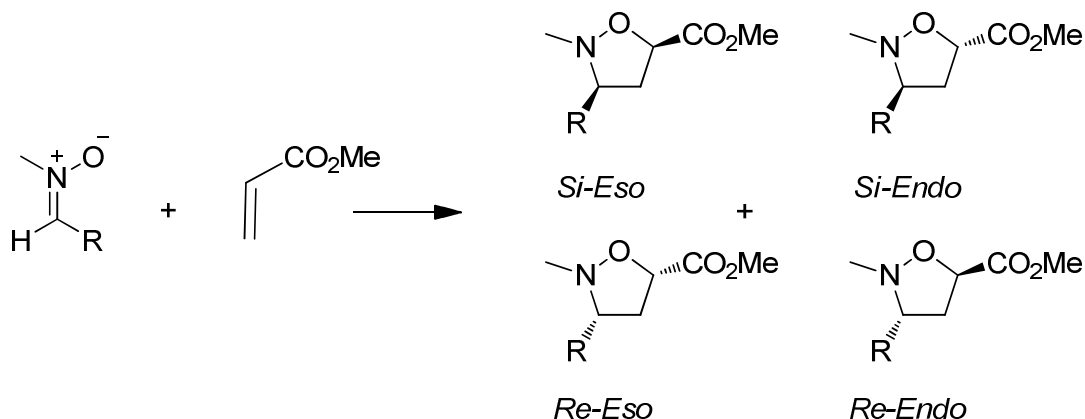
Quando un 1,3-dipolo e un dipolarofilo sono configurazionalmente stabili non avviene rotazione attorno ai legami  $\pi$  durante la formazione concertata dei legami  $\sigma$ ; la conseguenza è la ritenzione di configurazione del dipolarofilo e ai centri terminali del dipolo, e si verifica tramite un attacco *syn* del dipolo sul doppio legame (Schema 2.4).



**Schema 2.4:** Ritenzione di configurazione

Poiché vengono generati centri chirali, almeno uno su ciascuno dei due gruppi di atomi derivanti dai due reagenti, si assiste alla formazione di miscele stereoisomeriche. Intervengono due tipi di stereoselettività: la selettività *endo/eso*, determinata dalla differenza di energia libera dei due competitivi stati di transizione realizzati, attraverso

diverse orientazioni su due piani del dipolo rispetto al dipolarofilo; e la *selettività diastereofacciale* determinata da un competitivo attacco del dipolo sulle due facce del dipolarofilo chirale, indicate con *Si* e *Re*, o viceversa, e viene espressa come eccesso diastereomerico (*de*) (Schema 2.5).



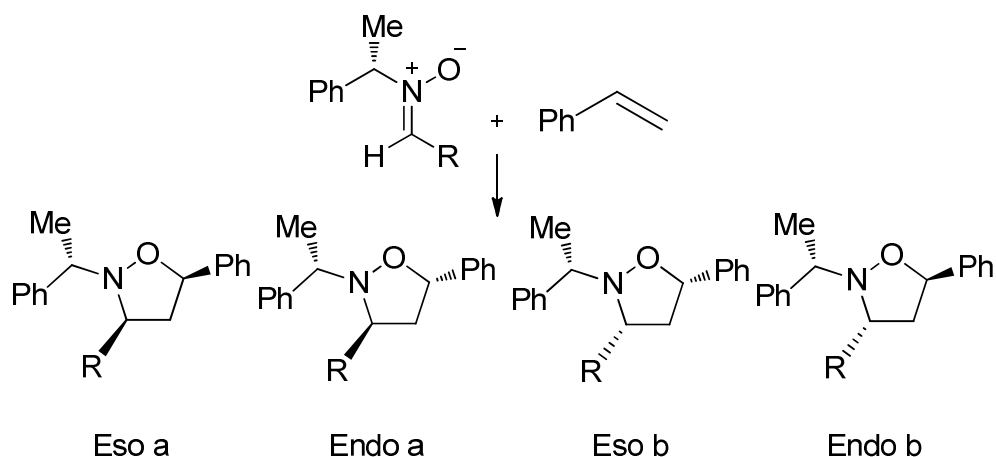
**Schema 2.5:** *Selettività endo/eso e selettività diastereofacciale*

La natura dei sostituenti influenza la regio e stereochimica ma conduce generalmente a miscele di composti. Per ottenere un controllo stereochimico si deve intervenire sulla struttura dei reagenti e questo può essere conseguito realizzando cicloaddizioni asimmetriche.

## 2.1 Cicloaddizioni 1,3-dipolari asimmetriche

I metodi più comuni per indurre asimmetria nelle reazioni di cicloaddizione 1,3-dipolare consistono nell'utilizzo di 1,3-dipoli chirali, ausiliari chirali sul dipolo o sul dipolarofilo, o impiego di catalizzatori chirali.

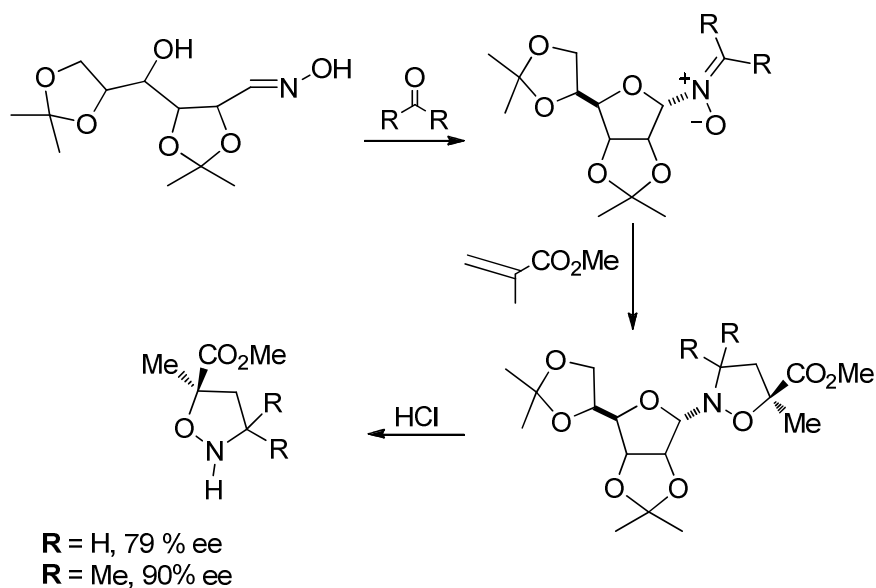
Un esempio di dipolo chirale è rappresentato da nitroni aventi il sostituyente chirale sull'atomo di azoto. Nello Schema 2.6 è riportata la reazione di un nitrone con stirene che produce una miscela di isomeri *eso/endo* in rapporti che vanno dal 68:32 all'87:13.<sup>68</sup>



**Schema 2.6:** *Impiego di nitroni chirali nella sintesi asimmetrica*

Un altro metodo per indurre asimmetria nei processi di cicloaddizione 1,3-dipolare, è rappresentato dall'utilizzo di ausiliari chirali sul dipolo.

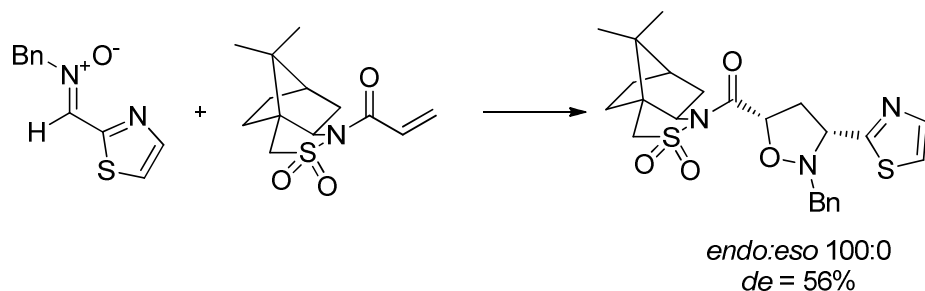
Vasella e coll.<sup>69</sup> hanno ottenuto nitroni otticamente attivi, a partire da glicosidi poco costosi. Attraverso la reazione dell'ossima del D-mannosio, parzialmente protetto, con formaldeide o acetone si ottengono nitroni chirali che, per reazione con metilmetacrilato, forniscono le isossazolidine come miscela di due diastereoisomeri. L'ausiliario chirale si recupera facilmente per idrolisi acida e le isossazolidine si formano con purezze ottiche del 79% e del 90% rispettivamente per nitroni ottenuti per reazione con formaldeide e acetone (Schema 2.7).



**Schema 2.7:** *Ausiliari chirali sull'1,3-dipolo*

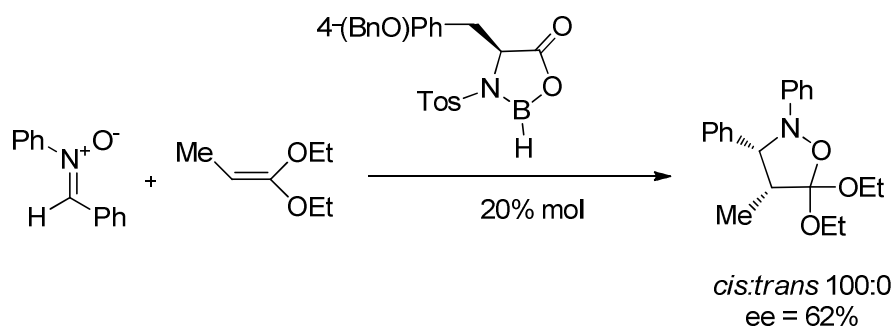


Gli ausiliari chirali possono essere utilizzati anche sul dipolarofilo. Derivati del sultame di Oppolzer<sup>70</sup> sono stati ampiamente impiegati in diverse cicloaddizioni asimmetriche ed hanno portato risultati sempre soddisfacenti. Tejero e coll.<sup>71</sup> hanno studiato le reazioni di C-(tiazolil)nitroni con vari acrilati chirali. In contrasto ai risultati ottenuti con acrilati achirali, la reazione del nitrone con l'acrilato del sultame di Oppolzer procede con completa regioselettività dando isossazolidine 3,5-disostituite. Il composto finale è stato ottenuto con totale *endo* selettività e con un eccesso diastereomerico (*de*) del 56% (Schema 2.8).



**Schema 2.8:** Derivati del Sultame di Oppolzer come ausiliari chirali

Negli esempi sopra riportati viene indotta l'asimmetria attraverso sostituenti chirali sui substrati. Nel 1994 sono stati realizzati i primi approcci di 1,3-DC asimmetrica di alcheni e nitroni achirali, utilizzando catalizzatori chirali<sup>72</sup>. Scheeren e coll.<sup>73</sup> riportano la prima 1,3-DC enantioselettiva, usando C,N-difenilnitroni e acetali chetenici. Questa reazione che coinvolge un alchene elettron-ricco è controllata dall'interazione tra  $LUMO_{\text{nitrone}}$  –  $HOMO_{\text{alchene}}$ . Essi dimostrarono che la coordinazione del nitrone con un forte acido di Lewis accelera notevolmente la reazione. Dopo i primi studi sull'aumento della velocità di reazione con l'uso di catalizzatori metallici, sono passati allo studio dell'induzione asimmetrica. Questa è stata raggiunta usando una ossazaborolidina chirale<sup>74</sup> che ha permesso di ottenere un solo diastereoisomero con una buona enantioselettività (62%) (Schema 2.9).

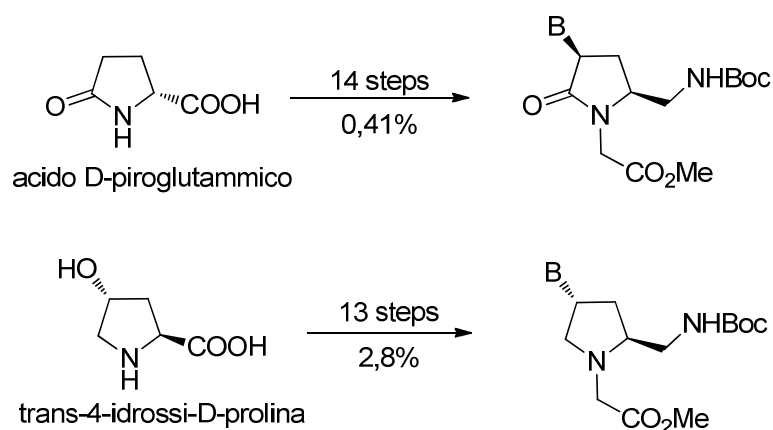


**Schema 2.9:** Ossazaborolidina come catalizzatore chirale

### 3. Scopo del lavoro

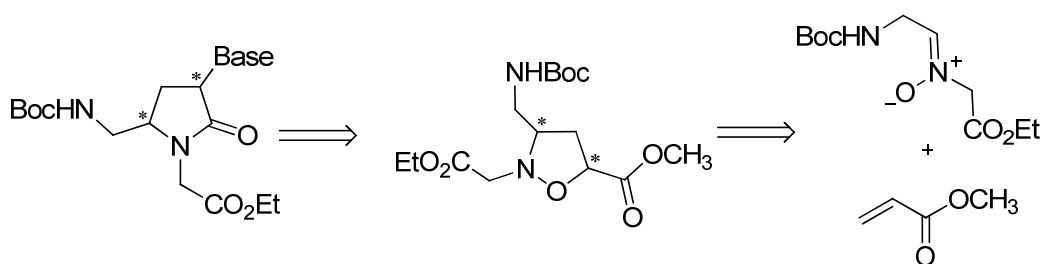
È stata realizzata una breve e conveniente sintesi di monomeri di PNA ciclici a cinque termini. In particolare sono stati sintetizzati eterocicli, attraverso reazioni di cicloaddizione 1,3-dipolare, come precursori di monomeri di PNA sui quali è possibile effettuare diverse sostituzioni con funzioni che modificano l'affinità di binding per gli acidi nucleici naturali e la solubilità nei mezzi biologici.

Come descritto precedentemente le sintesi di monomeri di PNA a cinque termini, note ad oggi, seguono gli approcci sintetici elaborati da Nielsen e coll. (Figura 3.1).<sup>59,63</sup>



**Figura 3.1:** Monomeri di PNA sintetizzati da Nielsen e coll

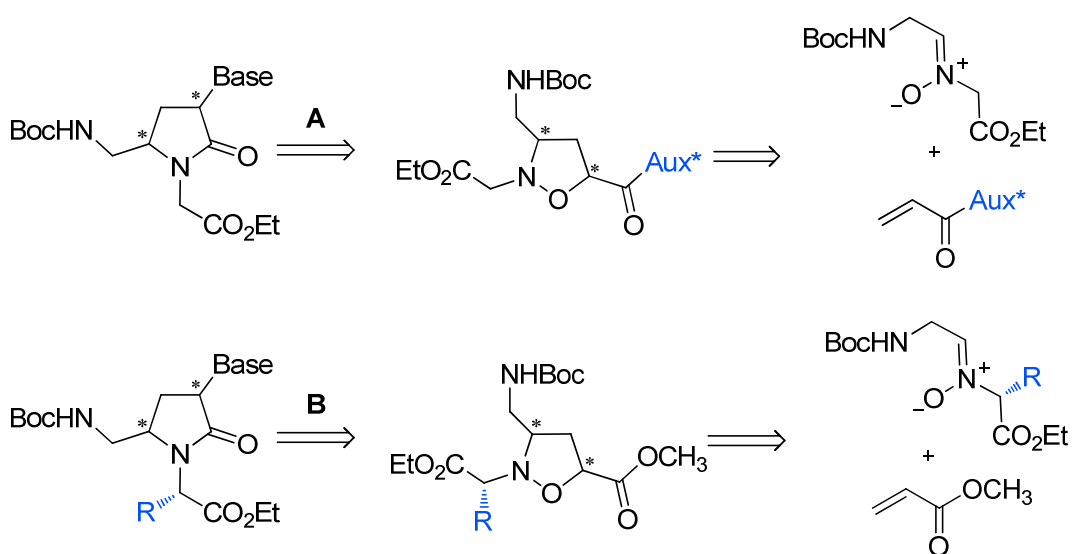
Tali approcci sono basati, fondamentalmente, sullo stesso principio, cioè prevedono una serie di trasformazioni dei gruppi funzionali dei composti di partenza, fino ad ottenere il monomero finale. Ciò inevitabilmente comporta l'impiego di numerosi passaggi sintetici. Considerando, invece, una strategia sintetica, basata sulla chimica delle cicloaddizioni 1,3-dipolari,<sup>75</sup> da una semplice analisi retrosintetica dei monomeri di PNA, si evidenzia una notevole riduzione del numero degli steps da eseguire per realizzare la sintesi degli addotti pirrolidinonici, installando le funzioni amminica e carbossilica in un solo passaggio, nella suddetta reazione periciclica (Schema 3.1).



**Schema 3.1:** Analisi retrosintetica del monomero di PNA pirrolidinonico

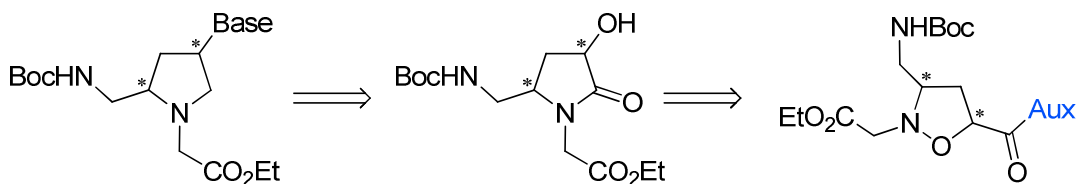
Le reazioni di cicloaddizione 1,3-dipolare, non sottoposte a controllo stereochimico, conducono sempre ad una miscela di cicloaddotti.

Poiché il nostro scopo è quello di ottenere composti con stereochimica definita, dalla quale dipendono le proprietà di binding dei PNA, sono stati elaborati due approcci retrosintetici, illustrati nello Schema 3.2, che descrivono due possibilità di reazioni asimmetriche di cicloaddizione 1,3-dipolare, utilizzando rispettivamente: ausiliari chirali sul dipolarofilo (A) e 1,3-dipoli chirali (B).



**Schema 3.2:** Analisi retrosintetica per cicloaddizioni 1,3-dipolari asimmetriche

Dai cicloaddotti isossazolidinici sintetizzati attraverso le reazioni di cicloaddizione 1,3-dipolare asimmetrica è stata inoltre progettata la sintesi di monomeri pirrolidinici, attraverso la riduzione del carbonile di anelli pirrolidinonici intermedi, a metilene (Schema 3.3).

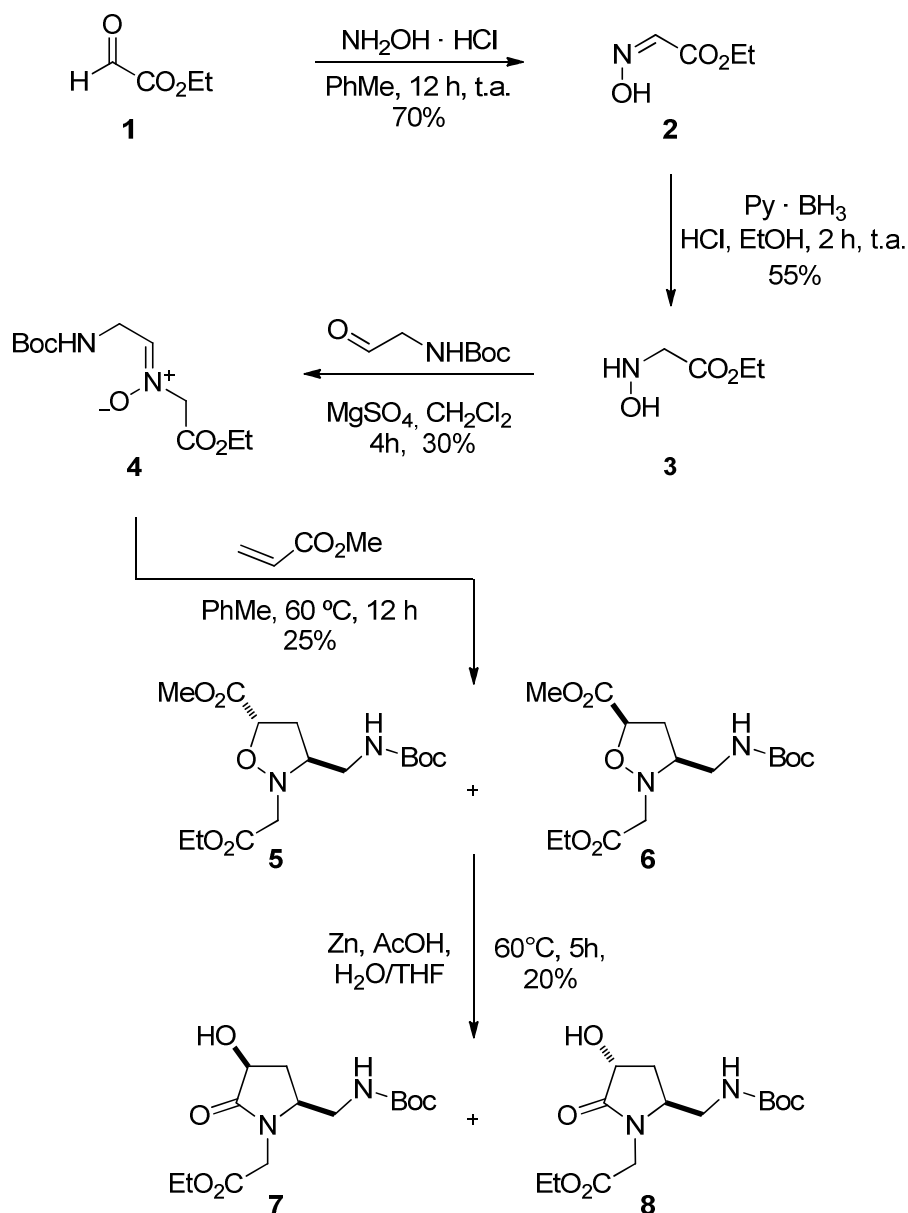


**Schema 3.3:** Analisi retrosintetica per la sintesi di monomeri pirrolidinici

## 4. Risultati e Discussione

### 4.1 Sintesi cicloaddotti isossazolidinici

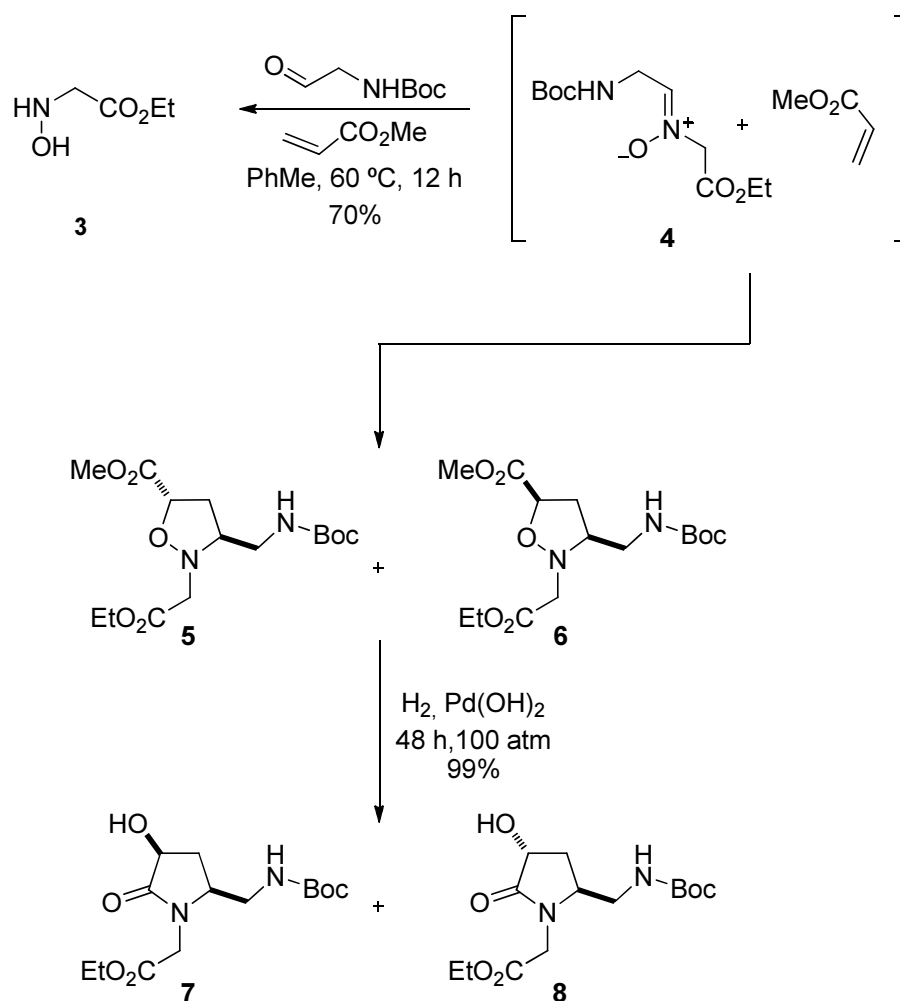
La prima parte del lavoro è stata dedicata alla sintesi non stereoselettiva di cicloaddotti isossazolidinici, al fine di ottimizzare la strategia sintetica da applicare nella sintesi finale degli analoghi ciclici dei PNA, ed inoltre per utilizzare cicloaddotti con stereochimica non definita come composti di riferimento, per le reazioni successive. Il primo approccio sintetico utilizzato, è visualizzato nello Schema 4.1. Il primo step prevede la formazione del 2-(idrossiimmino)acetato di etile **2** per condensazione dell'etilglioalato con idrossilammina cloridrato.



Schema 4.1

La successiva riduzione dell'ossima ottenuta **2** con borano in piridina conduce, con una resa del 55%, all'idrossilammina **3**, la quale risulta stabile ed è stata facilmente isolata e purificata per cromatografia flash (AcOEt/Cicloesano 3:7). In seguito, attraverso la reazione di **3** con l'*N*-Boc-glicinale si ottenuto il nitrone **4**, che reagisce con acrilato di metile tramite una cicloadizione 1,3-dipolare, dando origine gli addotti **5** e **6**. Tali anelli isossazolidinici, sottoposti a scissione riduttiva (Zn, AcOH) forniscono i pirrolidoni **7** e **8**. Questa prima strategia sintetica ha mostrato diverse tappe limitanti, caratterizzate da una bassa resa, che conduce a risultati insoddisfacenti dal punto di vista sintetico, in particolare: a) sintesi del nitrone: 30%; b) cicloadizione 1,3-dipolare: 25%; c) scissione riduttiva: 20%.

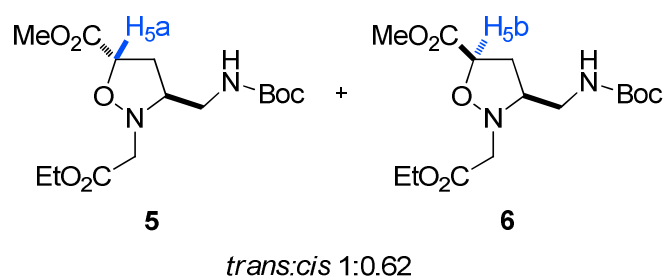
Al fine di ottimizzare la strategia sintetica, quindi raggiungere una resa totale più elevata, sono stati studiati gli steps limitanti, scegliendo reazioni alternative che hanno permesso di ottenere risultati migliori (Schema 4.2).



Schema 4.2

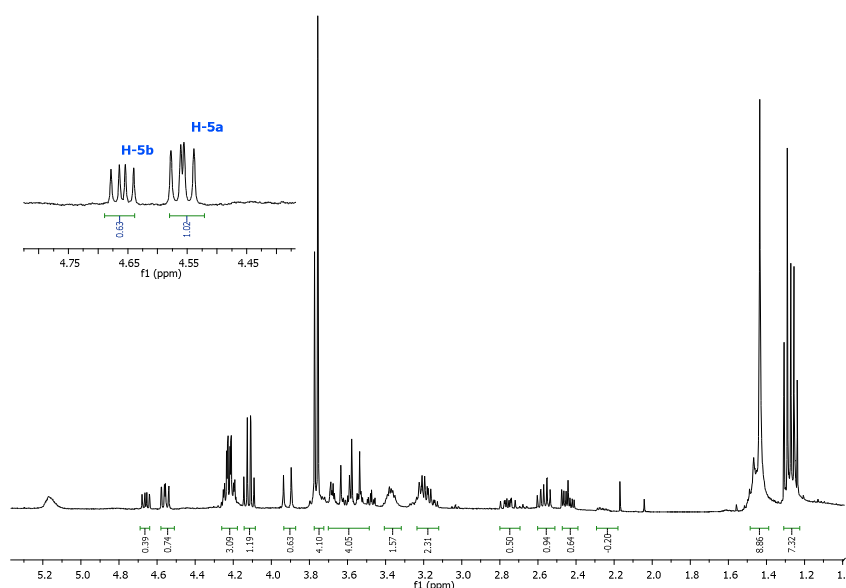
In particolare, è stata realizzata la cicloaddizione 1,3-dipolare in un solo step (*one-pot*).

Questa scelta è derivata dall'osservazione dell'instabilità del nitrone **4**, resa evidente dall'impossibilità di ottenere una purificazione dello stesso attraverso tecniche cromatografiche convenzionali. Ponendo in una fiala chiusa l'idrossilammina **3**, l'*N*-Boc-glicinale e l'acrilato di metile, a 60 °C per 12 h, ha luogo la formazione del nitrone **4** “*in situ*”, che reagendo con il metil acrilato presente nella miscela di reazione, da origine ai cicloaddotti **5** e **6**, con una resa del 70%. Con questa scelta sono state superate, contemporaneamente, le due prime tappe limitanti la sintesi (*a* e *b*). I cicloaddotti **5** e **6** sono stati ottenuti come miscela di stereoisomeri racemici 3,5-disostituiti. Tale miscela è stata, successivamente, purificata per HPLC (AcOEt/Cicloesano 0.5:9.5) fornendo gli stereoisomeri puri, ai quali, con l'ausilio di esperimenti 2D-NMR è stata assegnata la stereochimica. Dall'analisi dei dati spettrali è stato, inoltre, ricavato il rapporto *cis/trans* di 0.62:1 (Figura 4.2).



**Figura 4.1:** Stereoisomeri **5** e **6** con rapporto *trans/cis* di 1:0.62

### Spettro $^1\text{H}$ NMR di **5** e **6**



**Figura 4.2:** Spettro  $^1\text{H}$  NMR di **5** e **6** (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )

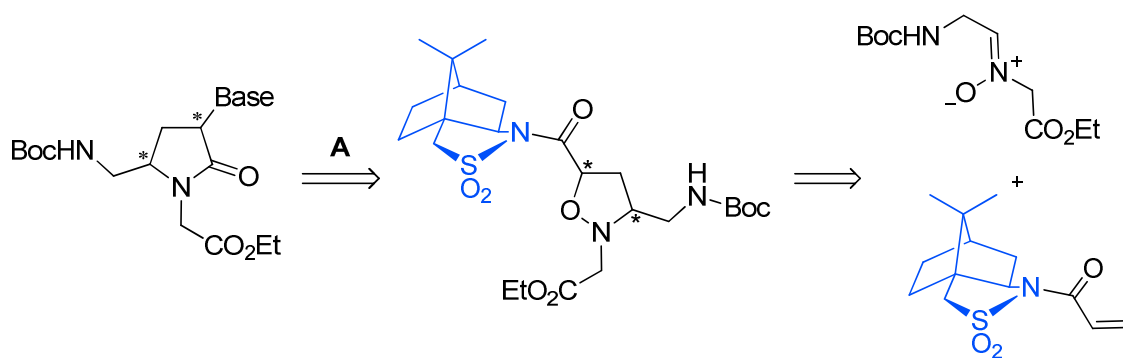
Come previsto dalla teoria degli orbitali molecolari di frontiera (FMO), la reazione presenta una completa regioselettività, poiché non sono stati isolati gli isomeri 3,4-disostituiti.

Per quanto riguarda la scissione riduttiva (c), dopo una serie di prove, che hanno coinvolto diversi metodi di produzione dell' $H_2$  necessario alla reazione di apertura dell'anello isossazolidinico, è stata evidenziata la scarsa efficacia della bassa pressione di idrogeno creata dalle reazioni prese in considerazione. Infatti applicando una alta pressione (100 atm), con una semplice idrogenazione catalitica ( $H_2$ ,  $Pd(OH)_2$ ) a temperatura ambiente, sono stati ottenuti i pirrolidoni **7** e **8** con una resa quasi quantitativa.

#### 4.2 Sintesi asimmetrica: ausiliare chirale sul dipolarofilo

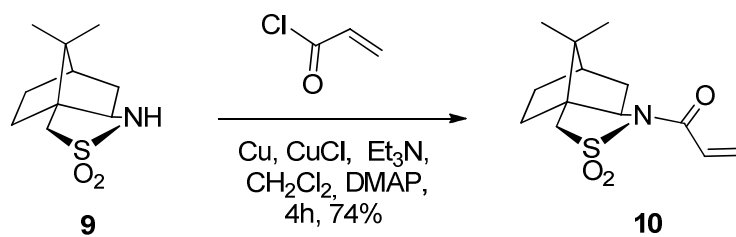
Dopo aver ottimizzato il percorso sintetico, sono state trasferite le reazioni esposte nello Schema 4.2 alla cicloadizione 1,3-dipolare asimmetrica.

Seguendo l'approccio A dell'analisi retrosintetica esposta precedentemente (Schema 2.2.), è stata progettata la sintesi di anelli isossazolidinici con stereochimica definita, utilizzando come ausiliare chirale sul dipolarofilo, un derivato del Sultame di Oppolzer,<sup>76</sup> l'*N*-acriloil-(2*R*)-10,2-sultame (Schema 4.3).



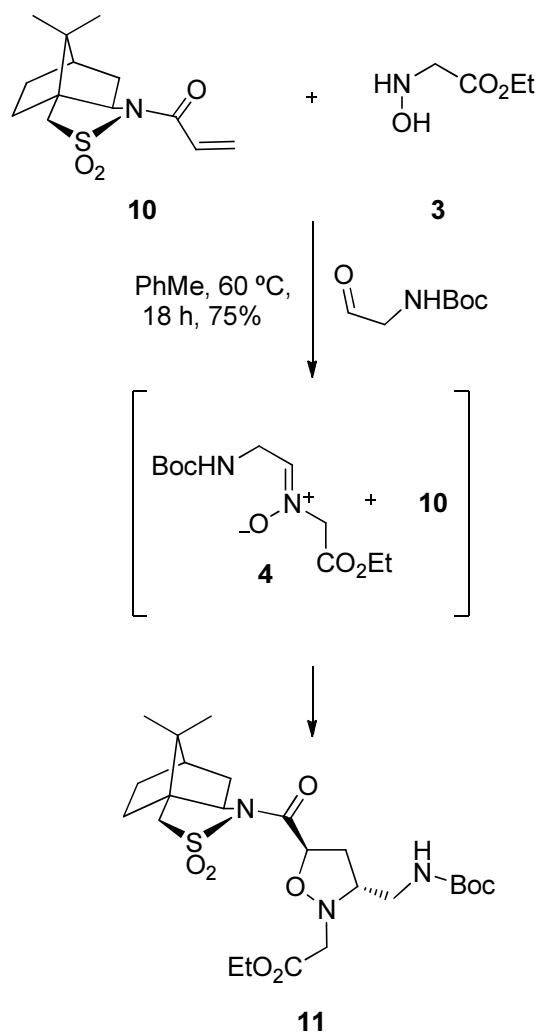
Schema 4.3

La sintesi dell'*N*-acriloil-(2*R*)-10,2-sultame **10** è stata realizzata, come descritto in letteratura,<sup>77</sup> sottoponendo il Sultame di Oppolzer **9** a trattamento con Cu metallico, CuCl,  $Et_3N$  e DMAP. Dopo 4 h a temperatura ambiente si ottenuto il derivato **10** con una resa del 74%, purificato mediante cromatografia flash (AcOEt/n-esano 1:9) (Schema 4.4).



**Schema 4.4**

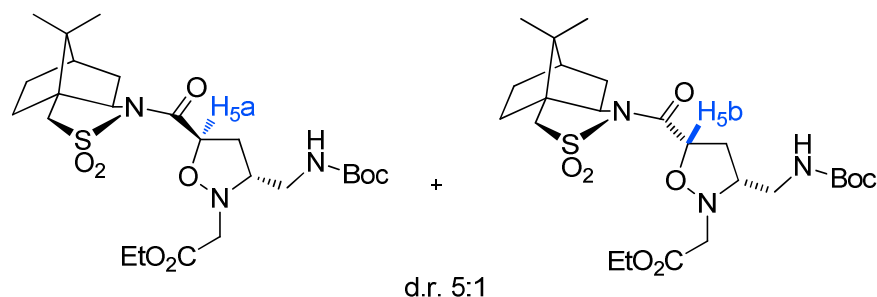
L'impiego dell'ausiliare chirale ha permesso un completo controllo regio- e stereochimico della cicloaddizione, infatti, è stato ottenuto un anello isossazolidinico 3,5-disostituito (**11**) con configurazione relativa *trans*, come prodotto quasi esclusivo (Schema 4.5).



**Schema 4.5**

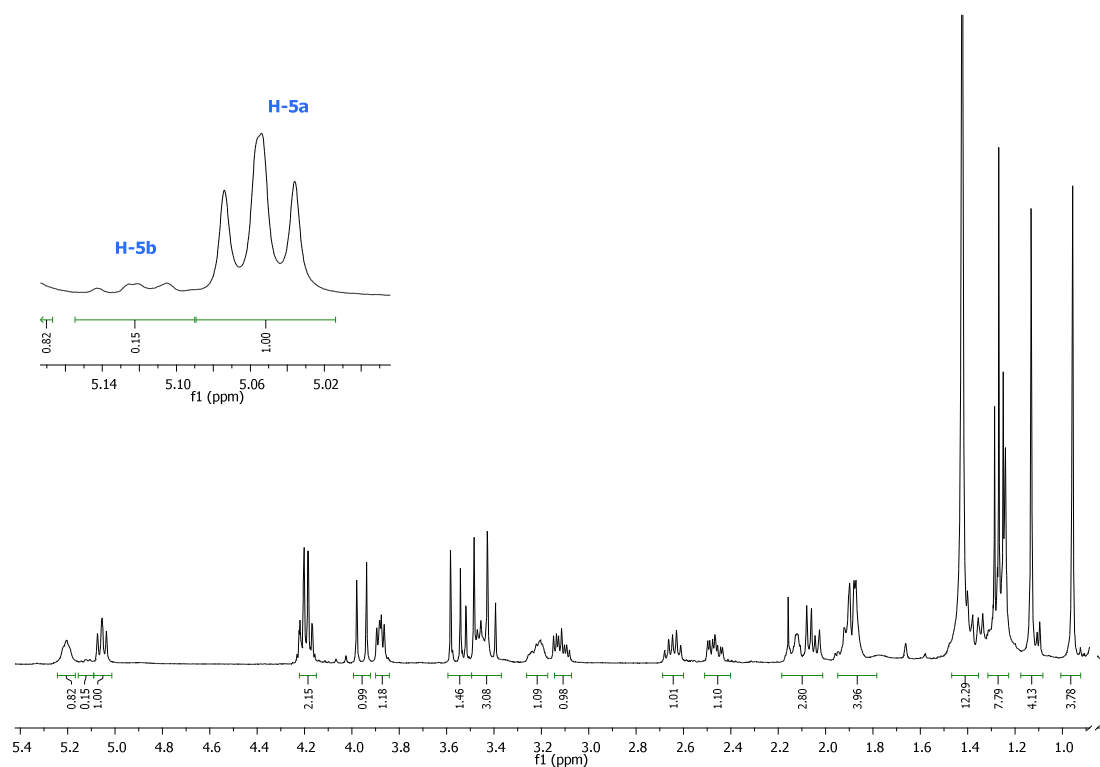


Ciò è mostrato nello spettro  $^1\text{H}$  NMR (Figura 4.4) del crudo di reazione che mostra un rapporto di diastereoselettività (*d.r.*) di 5:1, visibile osservando il rapporto tra i protoni H-5a e H-5b facilmente distinguibili tra i vari segnali presenti nello spettro  $^1\text{H}$  NMR (Figura 4.4).



**Figura 4.3:** Stereoisomeri *trans:cis* di **11** con *d.r.* 5:1

### Spettro $^1\text{H}$ NMR di **11**

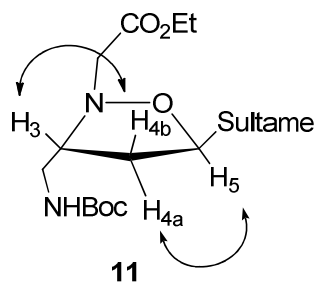


**Figura 4.4:** Spettro  $^1\text{H}$  NMR di **11** (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )

#### 4.2.1 Determinazione strutturale: configurazione relativa

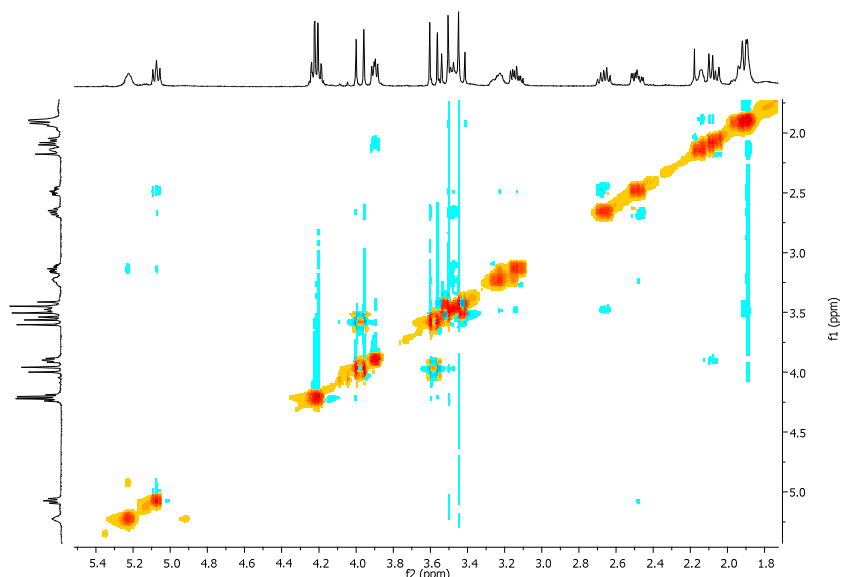
La configurazione relativa dell'addotto **11** è stata assegnata mediante l'analisi di esperimenti NOE bidimensionali. Nello spettro 2D-NOESY i cross-peak mostrano l'effetto NOE presente tra H-5 e H-4a e quello presente tra H-4b e H-3, evidenziando una

configurazione *trans* tra i sostituenti presenti in posizione 3 e 5 dell'anello isossazolidinico (Figura 4.6).



**Figura 4.5:** Effetti NOE sul cicloaddotto **11**

#### Spettro 2D-NOESY di **11**

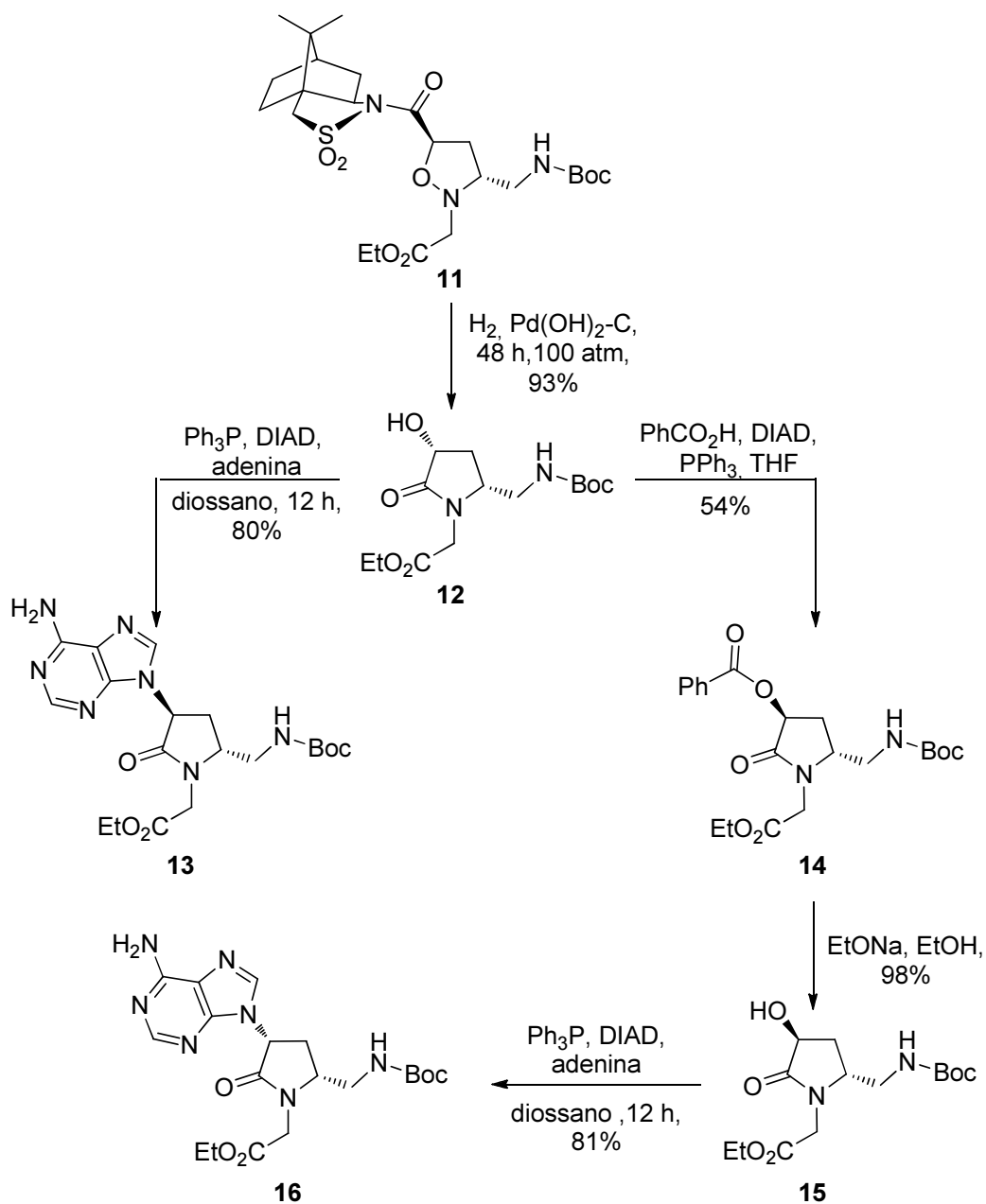


**Figura 4.6:** Spettro 2D-NOESY (400 MHz,  $CDCl_3$ )

#### 4.2.2 Sintesi dei monomeri pirrolidinonici

Il cicloaddotto **11**, ottenuto attraverso la cicloadizione 1,3-dipolare asimmetrica, rappresenta il composto chiave per la sintesi dei monomeri ciclici di PNA a stereochimica definita. Infatti tale composto, è stato utilizzato come prodotto di partenza di due tipi di monomeri finali: pirrolidinonici e pirrolidinici. Per quanto concerne la sintesi dei monomeri pirrolidinonici, illustrata nello Schema 4.6, il primo passaggio consiste nell'idrogenazione catalitica, attraverso la quale è stato ottenuto il pirrolidinone **12** con una resa del 93%, dopo purificazione per cromatografia flash (AcOEt 100%). In seguito è stata effettuata una reazione di Mitsunobu ( $Ph_3P$ , DIAD, adenina), che ha permesso l'introduzione della base azotata sul C-3 dell'anello pirrolidinonico, con contemporanea

inversione di configurazione dello stesso carbonio, fornendo il monomero *trans*-(3-(6-ammino-9*H*-purin-9-il)-5-[[*tert*-butossicarbonil) ammino]metil]-2-ossopirrolidin-1-il) acetato di etile **13**. L'intermedio pirrolidinonico **12** è stato utilizzato per sintetizzare il monomero **16** avente configurazione sul C-3 opposta a quella del composto **13**. Ciò è stato realizzato mediante una doppia Mitsunobu sul **12**. La prima è stata eseguita secondo le condizioni standard, utilizzando, quindi, acido benzoico, DIAD e trifenilfosfina, che ha condotto all'intermedio **14**, il quale, attraverso un'idrolisi basica, ha fornito il substrato (**15**) per la seconda reazione di Mitsunobu, eseguita, come nel primo caso, utilizzando adenina al posto dell'acido benzoico.

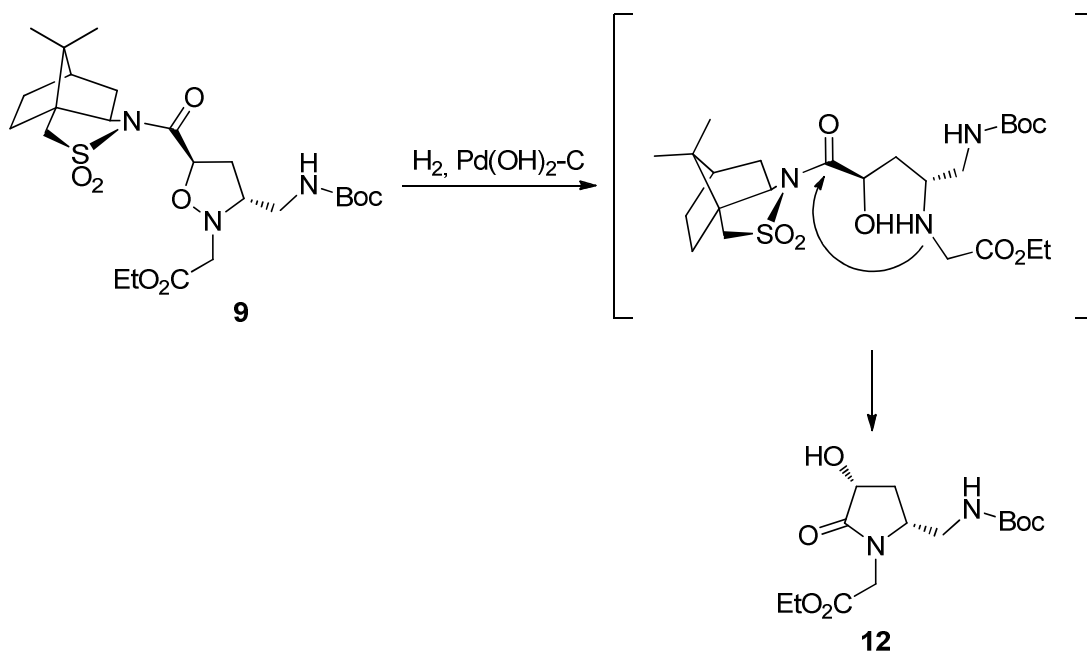


Schema 4.6

Il risultato finale della via sintetica appena descritta è costituito dai due monomeri di PNA pirrolidinonici **13** e **16**, aventi configurazione opposta al C-3.

#### 4.2.3 Determinazione strutturale: configurazione assoluta

La configurazione assoluta di tutti i composti sintetizzati è stata ricavata dall'analisi dell'intermedio **12**, poiché durante la reazione di idrogenazione catalitica i centri chirali non vengono affettati dal meccanismo della reazione, come illustrato nello Schema 4.7, di conseguenza, non si ha nessuna variazione di stereochimica. Pertanto dalla configurazione assoluta del composto **12** si può risalire a quella del cicloaddotto **11**, e dei monomeri finali **13** e **16**.



Schema 4.7

Nello specifico, il metodo utilizzato per determinare la configurazione assoluta di **12** è stato il *Metodo degli esteri di Mosher*.<sup>78</sup>

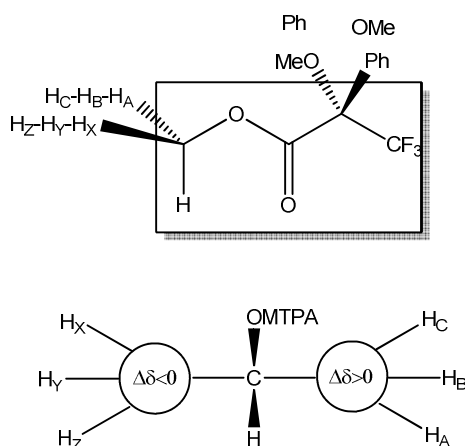
Tale metodo si basa sul presupposto, dimostrato da Mosher, che gli esteri di alcol secondari con l'acido 2-metossi-2-fenil-2-(trifluorometil) acetico (MTPA), in soluzione, assumono una conformazione preferenziale nella quale il protone carbinolico, il carbonile estereo e il gruppo trifluorimetilico stanno sullo stesso piano.

Partendo da questo assunto, si possono analizzare i protoni dell'anello poiché i valori dei loro chemical shift vengono influenzati dall'effetto diamagnetico del fenile, e variano in conseguenza di tale effetto schermante. Considerando il protone H-4b si

osserva che nell'estere ottenuto dall'*R*-MTPA risuona a 1.72 ppm, mentre nell'altro stereoisomero, derivato dall'esterificazione di **12** con l'*S*-MTPA risuona a campi più bassi. Da ciò si deduce che nel primo caso l'H-4b si trova vicino al fenile, che con il suo effetto diamagnetico provoca uno schermaggio che fa risuonare il protone a campi più alti, quindi a frequenze più basse, al contrario, nell'estere del *S*-MTPA, si trova lontano dal fenile e risuona a campi più bassi (1.94 ppm). Il protone H-4a presente in posizione assiale, è troppo lontano dal fenile per subirne l'effetto diamagnetico, prova di ciò è la minima variazione a cui è soggetto il valore del suo chemical shift in entrambi gli esteri.

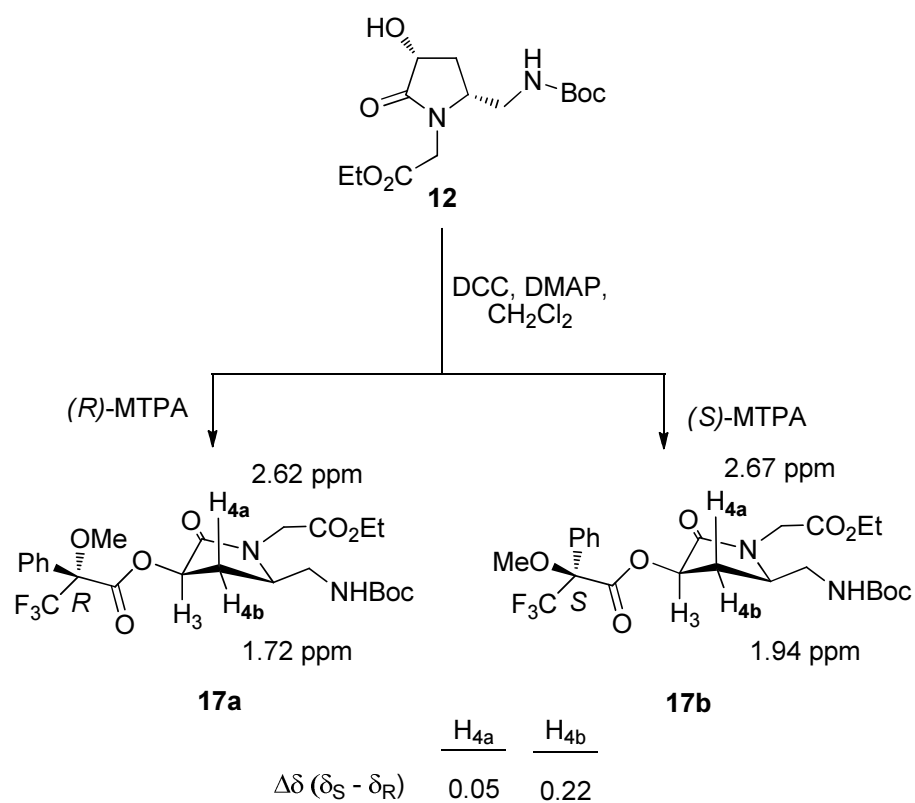
Una revisione del metodo di Mosher da parte di Kakisawa e Kashman,<sup>79</sup> indicato come "*Metodo di Mosher modificato*", è quella che viene utilizzata attualmente per la determinazione della configurazione assoluta di alcol secondari chirali.

I principi guida del metodo di Mosher modificato sono gli stessi proposti originariamente da Mosher, ma questa modifica ha introdotto un metodo matematico che consente di ottenere la configurazione assoluta in maniera più immediata. Vengono assegnate le risonanze protoniche, per ciascuno dei due esteri diastereoisomerici, si calcolano i valori di  $\Delta\delta$ , per convenzione riportati come  $\delta S - \delta R$ . Se l'estere assume la conformazione preferenziale riportata nella Figura 4.7, si osserva che tutti i protoni localizzati alla sinistra del piano dell'MTPA avranno valori  $\Delta\delta < 0$ , mentre quelli a destra avranno valori  $\Delta\delta > 0$ .



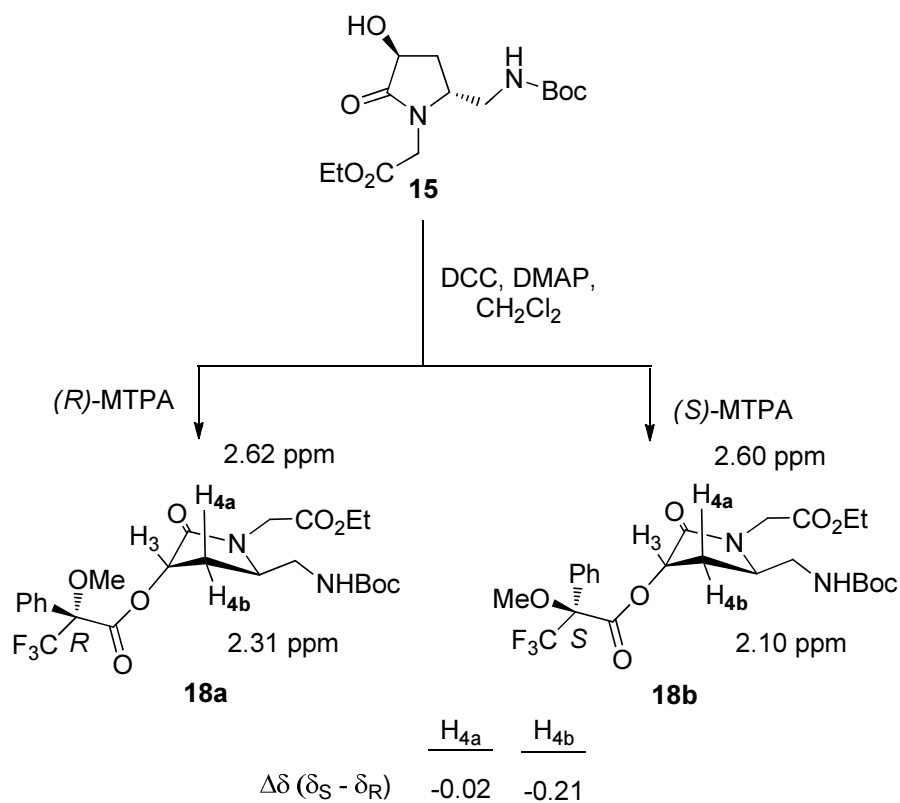
**Figura 4.7:** Conformazione preferenziale dell'estere di Mosher

Sono stati dunque sintetizzati gli esteri *S*-MTPA e *R*-MTPA del composto **12** e secondo il metodo appena esposto, la differenza di ppm riscontrata per H-4b e H-4a  $\Delta\delta > 0$  giustifica il modello ipotizzato che mostra una configurazione *R* dei C-3 e C-5 (Schema 4.8).



**Schema 4.8**

Per comprovare i risultati ottenuti con il metodo di Mosher modificato, sono stati sintetizzati gli esteri di Mosher anche per il pirrolidinone **15** (Schema 4.9).

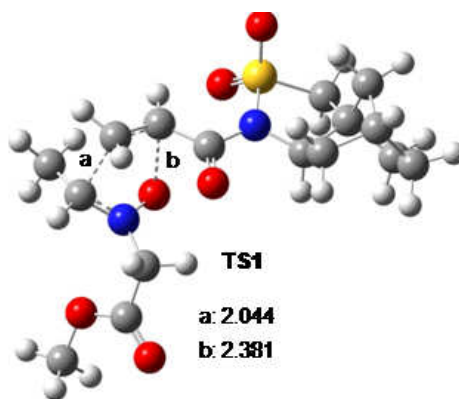


**Schema 4.9**

Il composto **15** sottoposto alla reazione di Mitsunobu deve presentare la stereochimica invertita sul C-3 rispetto al composto **12**. Come previsto, i risultati di  $\Delta\delta$  confermano la teoria di Mosher poiché risulta  $\Delta\delta < 0$ , quindi una configurazione opposta a quella del caso precedente, in particolare una configurazione *S* sul C-3.

Conoscendo dunque la configurazione del composto **12** si è risaliti alla configurazione assoluta del cicloaddotto **11** che risulta essere (3*R*,5*R*). L'issossazolidina **11**(3*R*,5*R*) è l'unico cicloaddotto ottenuto grazie alla elevata induzione chirale attuata dal derivato del Sultame di Oppolzer. Infatti, dalla reazione di cicloaddizione 1,3-dipolare tra il nitrone **4** e l'acrilato di sultame **10** si potrebbero formare quattro stereoisomeri diversi, derivanti dalle combinazioni tra i possibili approcci *endo/eso* e *Re/Si* tra il dipolo e il dipolarofilo.

Presso l'Università di Saragozza, sono stati effettuati calcoli computazionali preliminari, con l'utilizzo del metodo DFT (density functional theory) ai livelli B3LYP/6-31G(d) e B3LYP/6-311+G(d,p)//B3LYP/6-31G(d), sulle quattro strutture possibili dello stato di transizione (TS), ed i risultati indicano come stato di transizione favorito quello che deriva da un attacco *endo* sulla faccia *Si* del nitrone, che conduce all'addotto con configurazione (3*R*,5*S*) (Figura 4.8). È evidente un contrasto tra i dati sperimentali ottenuti attraverso il Metodo di Mosher, ed i calcoli computazionali, dato che lo stato di transizione che corrisponde ai dati sperimentali è il *TS2* che prevede un approccio *exo* sulla faccia *Si* del nitrone, in contrapposizione al *TS1* ottenuto dai calcoli (Tabella 4.1).



**Figura 4.8** Stato di transizione *TS1* ottenuto ai livelli di calcolo DFT di B3LYP/6-31G(d) e B3LYP/6-311+G(d,p)//B3LYP/6-31G(d). Le distanze di legame *a* e *b* sono espresse in amstrongs.

La differenza di energia relativa tra i due stati di transizione è minima, ed è compresa in un intervallo di errore accettabile. Il contrasto dei risultati ottenuti dai due metodi è

facilmente giustificato dal fatto che i calcoli preliminari sono stati eseguiti su livelli semplificati, sostituendo i gruppi CO<sub>2</sub>Et e NHBoc con gruppi metilici, che hanno influenzato la formazione dello stato di transizione, che risulta, di conseguenza diverso da quello del composto ottenuto.

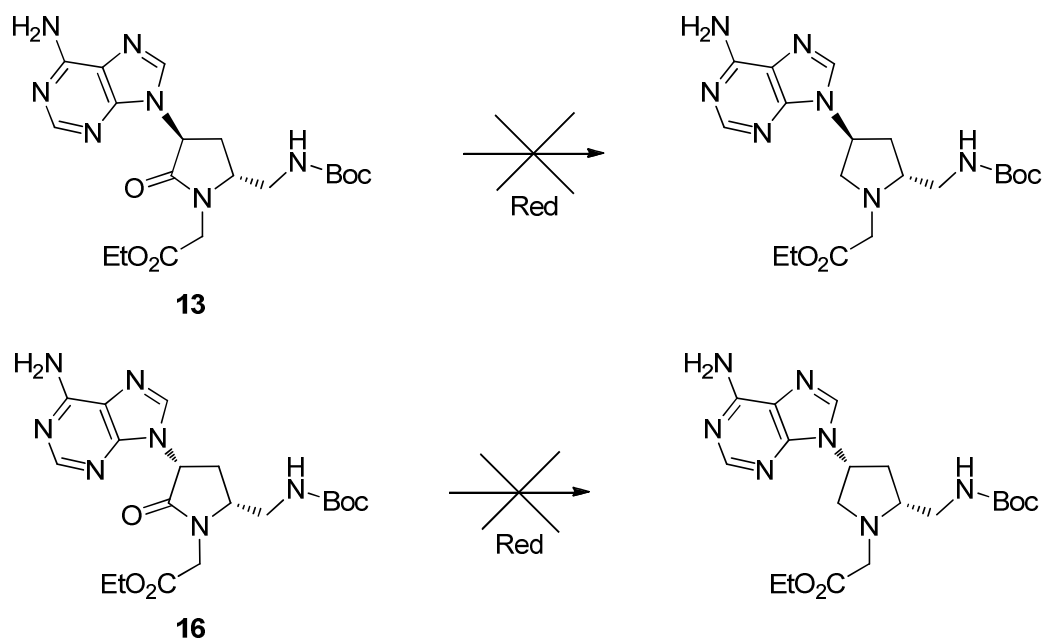
**Tabella 4.1**

<i>TS</i>	<i>Attacco</i>	<i>Prodotto</i>	<i>Energia tot</i>	<i>Energia rel</i>
<b>TS1</b>	<i>Si endo</i>	(3 <i>R</i> ,5 <i>S</i> )	-1583.003196	0.00
<b>TS2</b>	<i>Si eso</i>	(3 <i>R</i> ,5 <i>R</i> )	-1583.002915	0.18
<b>TS3</b>	<i>Re-endo</i>	(3 <i>S</i> ,5 <i>R</i> )	-1583.002396	0.50
<b>TS4</b>	<i>Re-es</i>	(3 <i>S</i> ,5 <i>S</i> )	-1583.001658	0.97

*Energie totali e relative per i quattro possibili stati di transizione TS del cicloaddotto II. Valori di Energie calcolati ai livelli B3LYP/6-311+G(d,p)//B3LYP/6-31G(d) in kcal/mol*

#### 4.2.4 Sintesi di monomeri pirrolidinici

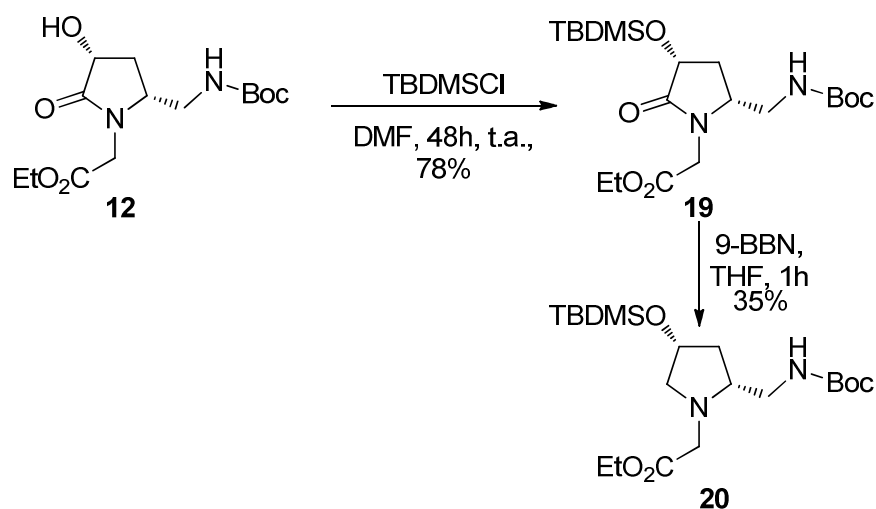
La sintesi di monomeri pirrolidinici proposta in questo lavoro di tesi, presenta, rispetto alle sintesi già note in letteratura, il vantaggio di essere breve e di condurre ai composti finali con alte rese. L'idea iniziale era quella di ottenere il monomero pirrolidinico per semplice riduzione del carbonile dei composti **13** e **16**, precedentemente sintetizzati (Schema 4.6). Ciò avrebbe ridotto nettamente gli steps necessari alla sintesi del composto finale, purtroppo la presenza della base non ha permesso la realizzazione di tale reazione (Schema 4.10).



**Schema 4.10**

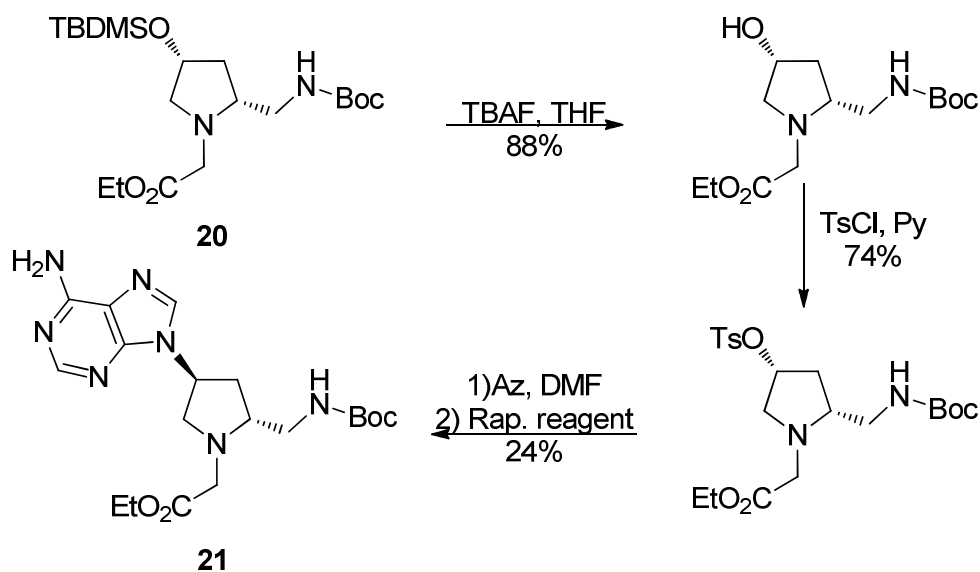


Una valida alternativa è stata raggiunta partendo dal composto **12**, ottenuto per scissione riduttiva dell'isossazolidina **11** (Schema 4.6), attraverso il quale si arriva ad un intermedio della sintesi realizzata da Nielsen del monomero pirrolidinico,<sup>63</sup> in soli 4 steps, in contrasto ai 10 steps impiegati nella sintesi presente in letteratura. La sintesi parziale dell'intermedio **20** viene facilmente conseguita attraverso una semplice protezione dell'ossidrilile in posizione 3 (TBDMSCl, DMF) del pirrolidinone **12**, seguita dalla riduzione del carbonile a metilene utilizzando 9-BBN in THF, che converte l'anello pirrolidinonico a pirrolidinico (Schema 4.11).



Schema 4.11

L'intermedio **20** può essere sottoposto alle reazioni elaborate da Nielsen per ottenere il monomero di PNA pirrolidinico finale **21**

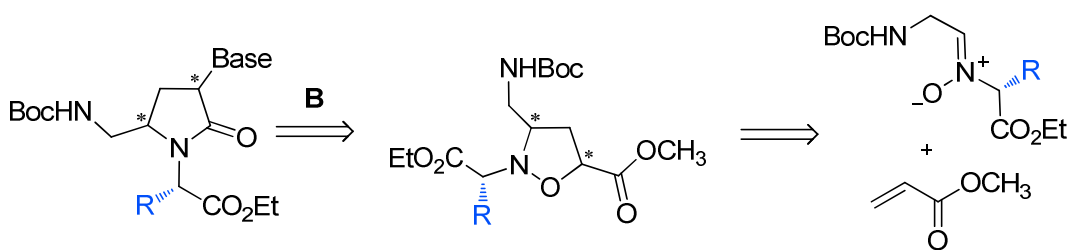


Schema 4.12.

La via sintetica prevede una desililazione per trattamento con TBAF in THF, seguita da tosilazione (TsCl, Py) che permette l'introduzione dell'adenina protetta attraverso la sostituzione nucleofila del tosilato (Schema 4.12).

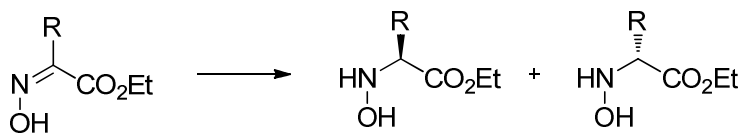
### 4.3 Sintesi asimmetrica: 1,3-dipoli chirali

Prendendo in considerazione l'approccio B dell'analisi retrosintetica precedentemente esposta (Schema 2.2), è stata conseguita la sintesi di issosazolidine sostituite, realizzando una cicloaddizione 1,3-dipolare asimmetrica, attraverso l'utilizzo di nitroni chirali (Schema 4.13).



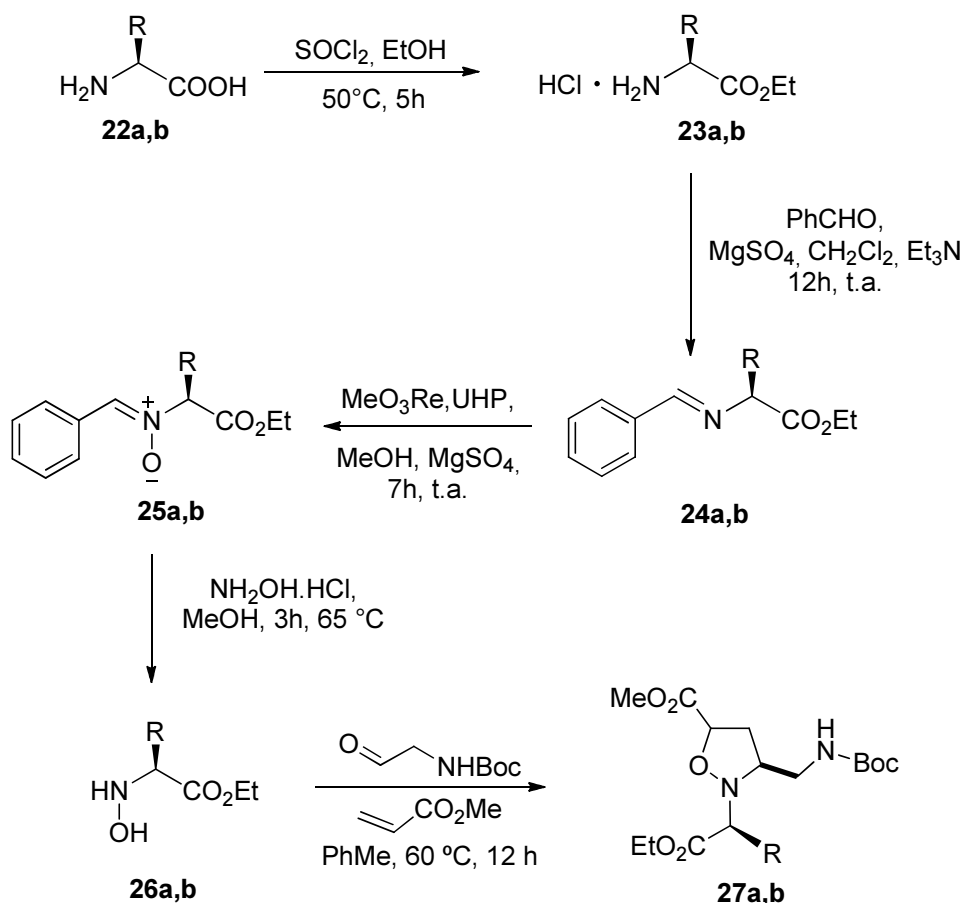
Schema 4.13

L'approccio sintetico progettato implica la sintesi di nitroni chirali a partire da idrossilammine chirali. Queste ultime non possono essere ottenute seguendo la strada sintetica impiegata per le idrossilammine achirali, vale a dire la semplice riduzione di ossime (Schema 4.1), poiché comporterebbe l'applicazione di riduzioni enantioselettive, che risultano difficili da conseguire, e nel migliore dei casi, non si raggiunge comunque un *ee* del 100%, ma sempre una coppia di enantiomeri (Schema 4.14).



Schema 4.14

Poiché è necessaria una purezza ottica dei composti sintetizzati è stata scelta una via alternativa per la sintesi delle idrossilammine, basata sulla reazione di transossimazione (Schema 4.15).



**a:** R = Me; **b:** R = Bn

**Schema 4.15**

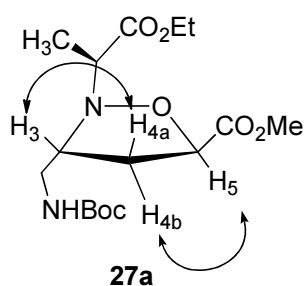
I prodotti di partenza sono costituiti da *L*-amminoacidi, in particolare sono stati usati *L*-Alanina e *L*-Fenilalanina. La prima reazione consiste nella conversione degli amminoacidi nei rispettivi esteri etilici cloridrato, i quali, per condensazione con la benzaldeide in presenza di solfato di magnesio in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  anidro e trietilammina, conducono alle immine **24a** e **24b**. Successivamente si procede all'ossidazione delle immine mediante l'utilizzo di  $\text{MeO}_3\text{Re}$ , UHP in MeOH, con la conseguente formazione dei nitroni **25a** e **25b**. Le idrossilammine **26a** e **26b** sono state, in seguito, ottenute con una resa del 50%, attraverso una transossimazione dei nitroni **25a** e **25b**, utilizzando  $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$  in MeOH, e dopo purificazione per cromatografia flash sono state utilizzate nella reazione di cicloaddizione 1,3-dipolare "one-pot".

Anche in questo caso, come nella precedente sintesi asimmetrica (Schema 4.5), la reazione risulta caratterizzata da una completa regioselettività, infatti è stata ottenuta una

miscela di isossazolidine 3,5-disostituite, e non sono presenti isomeri 3,4-disostituiti. Una notevole differenza con la sintesi precedente riguarda invece la diastereoselettività.

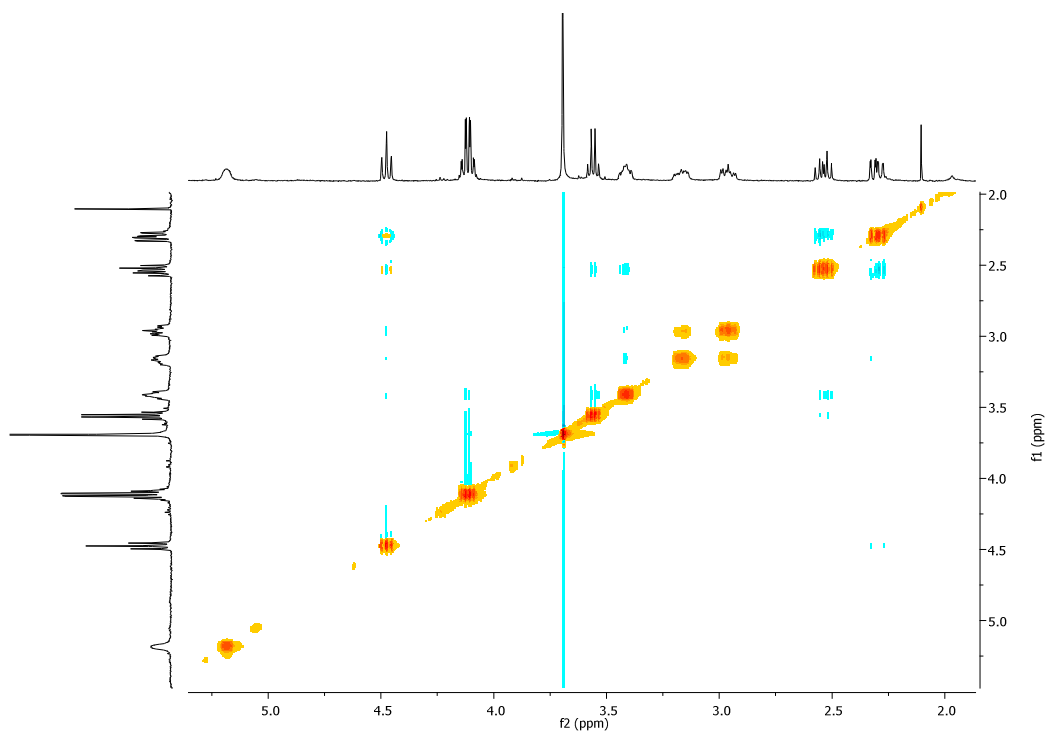
L'induzione asimmetrica conseguita utilizzando il derivato del Sultame di Oppolzer, come ausiliare chirale sul dipolarofilo, ha fornito ottimi risultati (*d.r.* 5:1), mentre l'asimmetria indotta dai nitroni chirali risulta minore.

È stato, infatti, evidenziato un *d.r.* di 1:0,5 per **27a** e un *d.r.* di 1:0,5:0,3 per il **27b**. In entrambi i casi, dopo purificazione per HPLC sono stati isolati e caratterizzati i prodotti maggioritari, che presentano una configurazione *trans* tra i sostituenti in C-3 e C-5, come confermato da esperimenti NMR bidimensionali (Figure 4.10, 4.12).

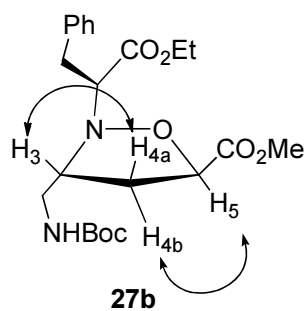


**Figura 4.9:** Effetti NOE sul cicloaddotto **27°**

#### Spettro 2D-NOESY di **27a**

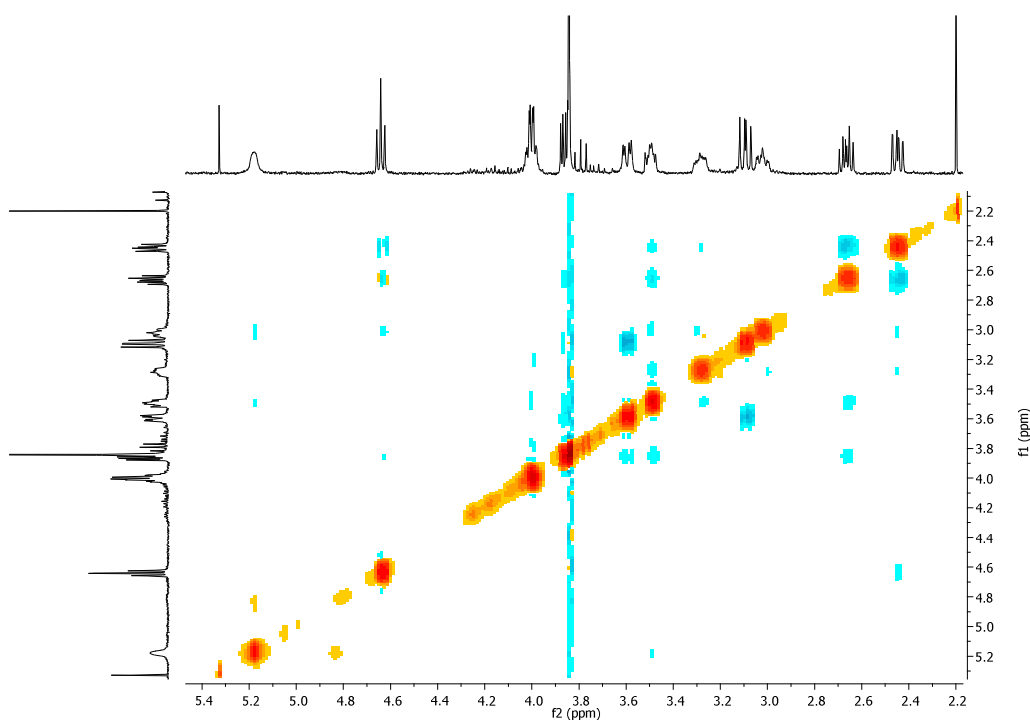


**Figura 4.10:** Spettro 2D-NOESY (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )



**Figura 4.11:** Effetti NOE sul cicloaddotto **27b**

### Spettro 2D-NOESY di **27b**

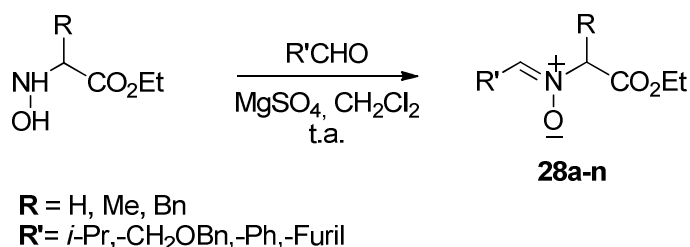


**Figura 4.12:** Spettro 2D-NOESY (400 MHz,  $CDCl_3$ )

In entrambi gli spettri 2D-NOESY i cross-peak mostrano l'effetto presente tra H-5 e H-4b e quello presente tra H-4a e H-3, rispettivamente nei cicloaddotti **27a** e **27b**, che evidenziano una configurazione *trans* tra i sostituenti presenti in C-5 e C-3 dell'anello isossazolidinico.

### 4.3.1 Studio sull'induzione asimmetrica di nitroni chirali

Per chiarire l'effetto sull'induzione asimmetrica dei nitroni chirali è stato ampliato lo studio delle cicloaddizioni 1,3-dipolari. In primo luogo sono stati sintetizzati diversi nitroni, utilizzando opportune aldeidi (Schema 4.16).



Schema 4.16

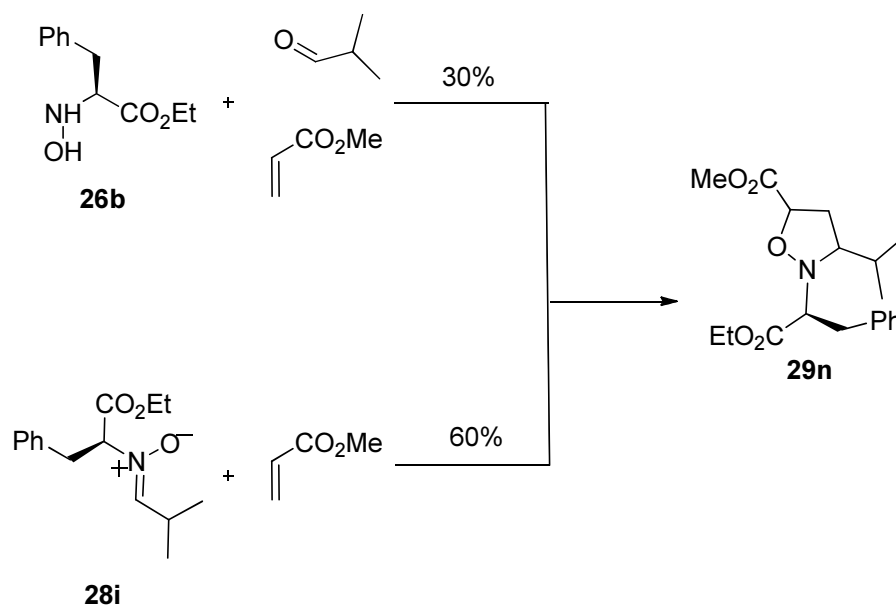
Il procedimento di sintesi consiste nel trattamento dell'idrossilammina con l'aldeide, in presenza di solfato di magnesio, a temperatura ambiente. I tempi e le rese di reazione dipendono dall'aldeide impiegata nella sintesi come mostrato nella Tabella 4.2.<sup>80</sup>

Tabella 4.2: nitroni 28a-n

	R	R'	t	Resa
<b>a</b>	H	<i>i</i> -Pr	4h	30%
<b>b</b>	H	CH <sub>2</sub> OBn	4h	60%
<b>c</b>	H	Ph	4h	80%
<b>d</b>	H	Furil	36h	90%
<b>e</b>	CH <sub>3</sub>	<i>i</i> -Pr	4h	85%
<b>f</b>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> OBn	4h	58%
<b>g</b>	CH <sub>3</sub>	Ph	12h	89%
<b>h</b>	CH <sub>3</sub>	Furil	36h	69%
<b>i</b>	Bn	<i>i</i> -Pr	4h	87%
<b>l</b>	Bn	CH <sub>2</sub> OBn	4h	99%
<b>m</b>	Bn	Ph	4h	90%
<b>n</b>	Bn	Furil	36h	83%

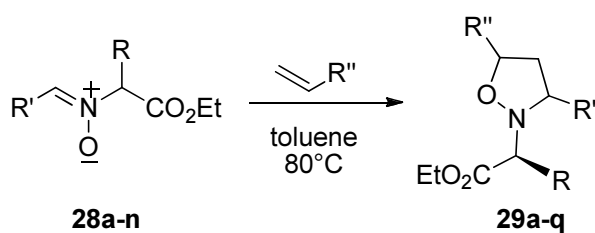
Tempi di reazione (t) e rese (%) della sintesi dei nitroni **28a-n**

I nitroni ottenuti hanno mostrato una elevata stabilità chimica, a differenza del nitrone derivato dall'aldeide *N*-Boc-glicinale (**4**) sintetizzato per la precedente sintesi di anelli issossazolidinici (Schema 4.1). In un primo momento sono state effettuate le cicloaddizioni in un solo step, come nei casi precedenti, ma in seguito, sfruttando la stabilità dei nuovi nitroni (**28a-n**) è stata eseguita una prova realizzando la cicloaddizione nelle condizioni standard, vale a dire, con previo isolamento del nitrone.



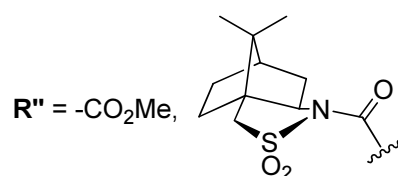
Schema 4.17

Dai risultati ottenuti è stato evidenziato un netto aumento della resa di reazione (Schema 4.17), di conseguenza le successive cicloaddizioni sono state realizzate secondo tale protocollo sintetico (Schema 4.18).



$R = H, Me, Bn$

$R' = i\text{-Pr}, -CH_2OBn, -Ph, -Furil$



Schema 4.18

Nella seguente Tabella 4.3 sono riportati le rese e i rapporti diastereomerici ottenuti dalle reazioni di cicloadizione 1,3-dipolare asimmetriche utilizzando dipolarofili chirali e nitroni chirali. Analizzando i dati ottenuti il risultato più evidente è l'elevata diastereoselettività conseguita utilizzando il derivato del Sultame di Oppolzer, come induttore di chiralità. Al contrario, l'induzione asimmetrica dovuta ai nitroni chirali è modesta, e dipende fortemente dall'aldeide coinvolta nella sintesi.

**Tabella 4.3:** *Rese e d.r. dei cicloadotti 11, 27a,b e 29a-n*

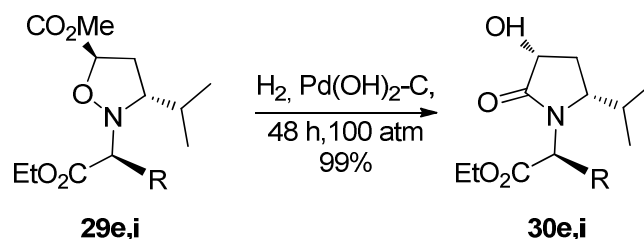
	<b>R</b>	<b>R</b>	<b>R''</b>	<b>t</b>	<b>Resa</b>	<b>d.r.</b>
<b>11</b>	H	CH <sub>2</sub> NHBoc	Sultame	18h	75%	1:0.2
<b>29a</b>	H	<i>i</i> -Pr	Sultame	18h	20%	1:0.3
<b>29b</b>	H	CH <sub>2</sub> OBn	Sultame	18h	80%	1:0.2
<b>29c</b>	H	Ph	Sultame	18h	41%	1:0.3
<b>29d</b>	H	Furil	Sultame	18h	80%	1:0.3
<b>27a</b>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> NHBoc	CO <sub>2</sub> Me	12h	20%	1:0.5:0.5
<b>29e</b>	CH <sub>3</sub>	<i>i</i> -Pr	CO <sub>2</sub> Me	12h	52%	1:0.7:0.6:0.5
<b>29f</b>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> OBn	CO <sub>2</sub> Me	9h	65%	1:1:0.5
<b>29g</b>	CH <sub>3</sub>	Ph	CO <sub>2</sub> Me	12h	83%	1:0.4:0.3
<b>29h</b>	CH <sub>3</sub>	Furil	CO <sub>2</sub> Me	24h	77%	1:0.7:0.3
<b>27b</b>	Bn	CH <sub>2</sub> NHBoc	CO <sub>2</sub> Me	12h	40%	1:0.5:0.3
<b>29i</b>	Bn	<i>i</i> -Pr	CO <sub>2</sub> Me	12h	60%	1:0.4:0.4:0.3
<b>29l</b>	Bn	CH <sub>2</sub> OBn	CO <sub>2</sub> Me	12h	50%	1:0.5:0.3
<b>29m</b>	Bn	Ph	CO <sub>2</sub> Me	12h	82%	1:0.2:0.2
<b>29n</b>	Bn	Furil	CO <sub>2</sub> Me	36h	81%	1:0.5:0.3

*Tempi di reazione (t) e rese (%) e rapporto diastereomerico (d.r.) per i cicloadotti 29a-n*



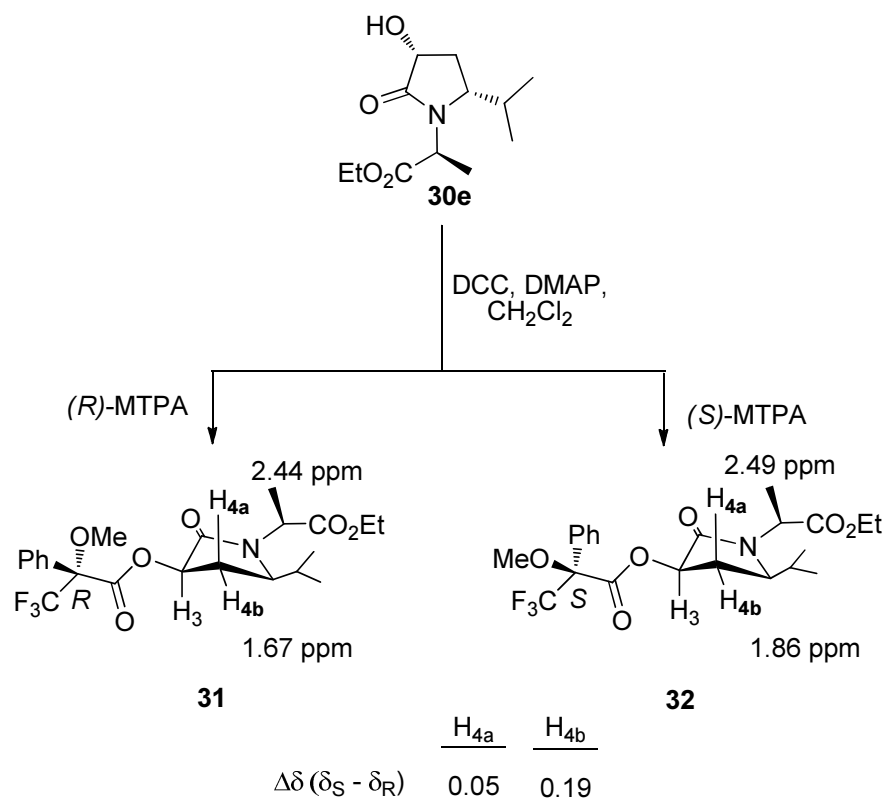
### 4.3.2 Determinazione strutturale: cicloaddotti sostituiti

È stata determinata la configurazione assoluta dei prodotti maggioritari, ottenuti per purificazione mediante HPLC, delle miscele di addotti forniti dalle reazioni di cicloaddizione 1,3-dipolare dei nitroni chirali con acrilato di metile. Come nei casi precedenti, è stata realizzata una idrogenazione catalitica dei cicloaddotti, per ottenere pirrolidoni che mantengono la stessa configurazione assoluta sui centri chirali, e possono essere sfruttati per applicare il “Metodo degli esteri di Mosher”. Sono stati utilizzati i cicloaddotti derivati dall'aldeide isopropilica, aventi come sostituito sul C-chirale, rispettivamente il Me (**29e**) ed il Bn (**29i**) (Schema 4.19).



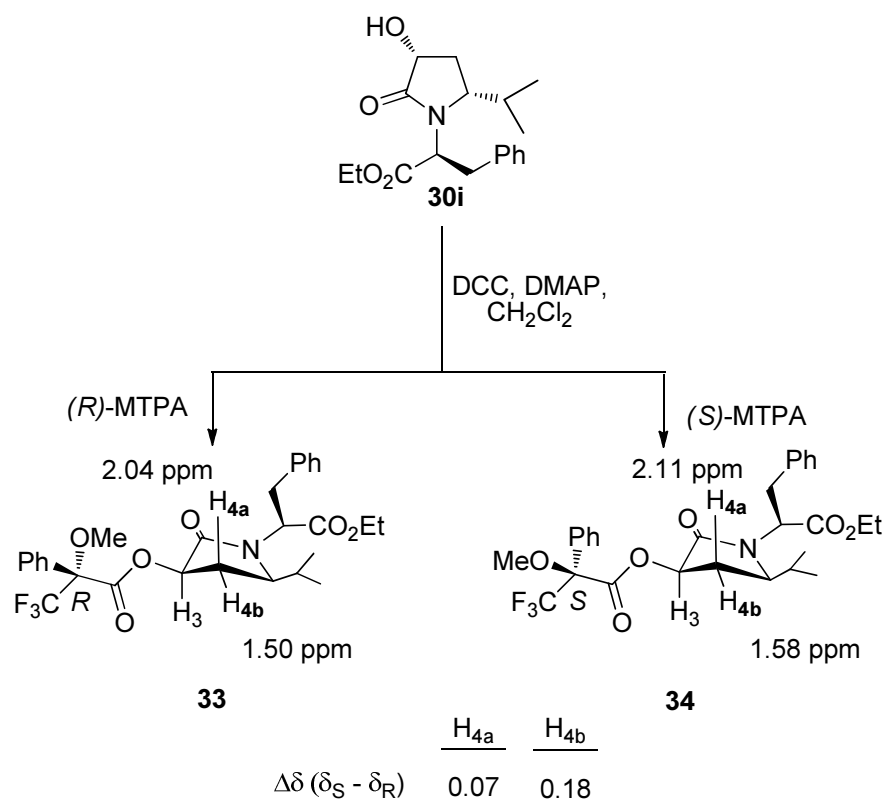
Schema 4.19

I pirrolidoni **30e** e **30i** sono stati esterificati con gli acidi di Mosher, e dopo gli opportuni calcoli, eseguiti secondo il modello di Kakisawa e Kashman, sono state stabilite le strutture illustrate negli Schemi 4.20 e 4.21.



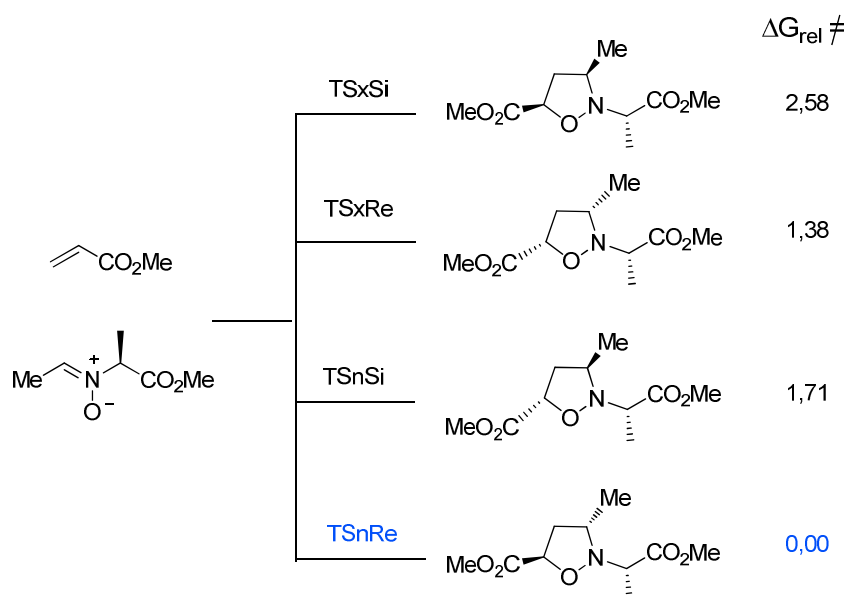
Schema 4.20

Per entrambi i casi i valori di  $\Delta\delta$  ( $\delta_S - \delta_R$ ) > 0 indicano una configurazione (3*R*,5*R*). Di conseguenza il derivato del Sultame di Oppolzer, ed i nitroni chirali inducono la stessa chiralità, ma con efficienza diversa.



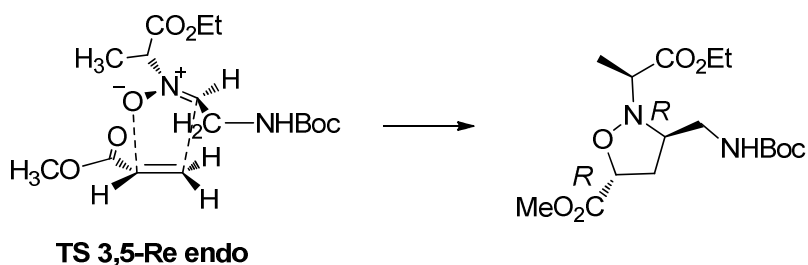
**Schema 4.21**

Per il ciclo addotto **29g** sono stati inoltre effettuati dei calcoli computazionali preliminari, che hanno confermato i dati sperimentali (Schema 4.22).



**Schema 4.22**

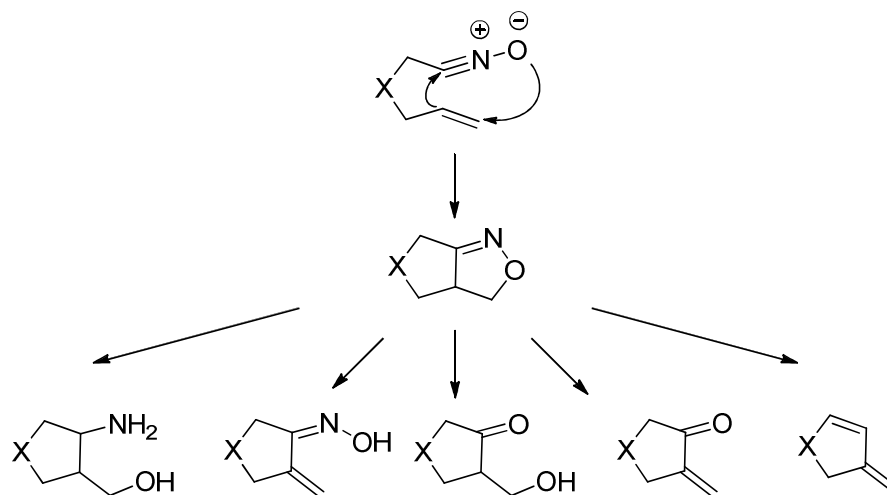
Dai calcoli risulta evidente che lo stato di transizione più stabile è quello che deriva da un approccio *endo* del dipolarofilo sulla faccia *Re* del nitrone (Schema 4.23).



**Schema 4.23**

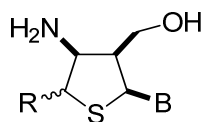
#### 4.4 Cicloaddizioni 1,3-dipolari intramolecolari

Nell'ambito della linea di ricerca basata sulla formazione di anelli isossazolidinici attraverso reazioni di cicloaddizione 1,3-dipolare, è stato pensato di studiare la cicloaddizione 1,3-dipolare intramolecolare. In particolare è stata presa in considerazione la cicloaddizione intramolecolare tra un nitrile ossido e una olefina (INOC)<sup>81</sup> che è utilizzata nel campo di funzionalizzazione di eterocicli, per gruppi funzionali difficili da introdurre con altri metodi sintetici. Ciò è reso possibile dal fatto che il legame N-O dell'isossazolidina viene facilmente scisso da reazioni riduttive ed i gruppi funzionali derivanti sono facilmente manipolabili (Schema 4.24).



**Schema 4.24**

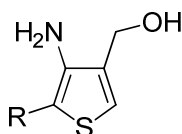
L'idea iniziale era quella di applicare questo tipo di reazione alla sintesi di analoghi nucleotidici modificati all'anello furonasico, in particolare con un atomo di zolfo al posto dell'ossigeno, per ottenere tionucleosidi (Figura 4.13).



B = timina, citosina, uracile, guanina, adenina  
R = alchile, fenile, carboidrati

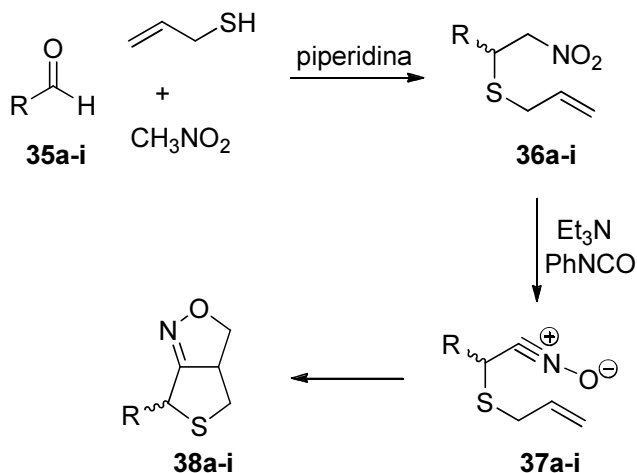
**Figura 4.13:** *Tionucleosidi*

In realtà un'aromatizzazione inaspettata del substrato nel penultimo step non ha permesso l'inserimento della base azotata, e quindi si è deciso di convertire il composto aromatico in un derivato del tiofene che presenta attività biologica (Figura 4.14)<sup>82</sup>.



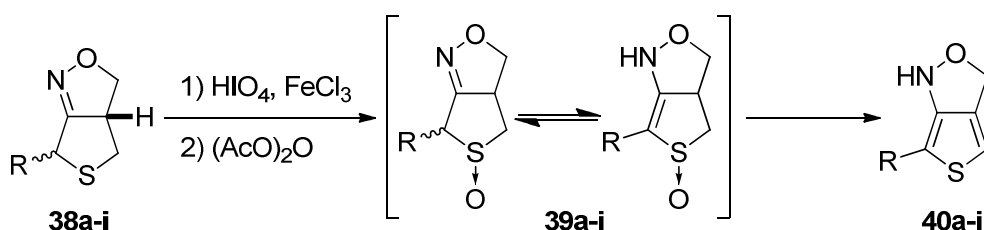
**Figura 4.14:** *Derivato del tiofene*

Per la preparazione del nitrile ossido da impiegare nella INOC sono stati utilizzati come composti di partenza, in un primo momento, nitrometano, acetaldeide (**35a**) e allil mercaptano, che per trattamento con piperidina, a temperature ambiente, hanno condotto al nitro solfuro **36a**. Attraverso la disidratazione con fenilisocianato in presenza di trietilammina, in accordo con il processo di Mukaiyama<sup>83</sup> è stato ottenuto il nitrile ossido insaturo **37a**, non isolabile, che per ciclizzazione intramolecolare spontanea ha fornito il bicciclo **38a** (Schema 4.25).



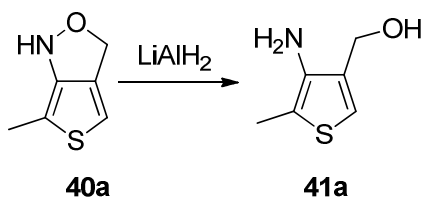
**Schema 4.25**

In seguito, con lo scopo di introdurre nell'anello biciclico il gruppo acetossi, da sostituire poi con le basi pirimidiniche e puriniche, è stata effettuata l'ossidazione a solfossido con acido periodico in presenza di cloruro ferrico,<sup>84</sup> e il successivo trattamento con anidride acetica a refluxo (Pummerer).<sup>85</sup> Contro le nostre aspettative, l'ossidazione del biciclo non conduce al tetraidrotiofene ma l'anello contenente lo zolfo, diventa aromatico, quindi il trattamento con anidride acetica porta all'isossazolinotiofene **40a** (62%) (Schema 4.26).



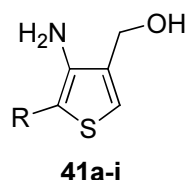
Schema 4.26

Questo deriva dalla formazione di una miscela di ossidi di tiofeni diastereomerici e dei loro tautomeri (**39a**), che originano da una trasposizione del protone dal C-6 al N, e l'aromatizzazione del tiofene per perdita di acido acetico. In conseguenza del risultato inaspettato si è pensato di sfruttare il composto **40a** come precursore di derivati tiofenici che presentano diverse potenziali proprietà biologiche.<sup>86</sup> Attraverso una scissione riduttiva del biciclo aromatico **40a** con litio alluminio idruro è stato ottenuto il 3-ammino-4-idrossimetil-2-metiltiofene **41a** (Schema 4.27).



Schema 4.27

Con un programma diretto alla sintesi di derivati del tiofene con diversi sostituenti in posizione 2, che presentano interessanti applicazioni biologiche sono stati sintetizzati una serie di derivati tiofenici (Figura 4.15), seguendo lo stesso approccio sintetico riportato precedentemente.<sup>87</sup>



**Figura 4.15**

I composti finali **41a-i** (Figura 4.15) sono stati ottenuti con moderate rese, riportate nella Tabella 4.4.

**Tabella 4.4:** rese (%) dei composti **41a-i**

	R	Resa (%)
<b>41a</b>	Me	55%
<b>41b</b>	Et	58%
<b>41c</b>	Ph	62%
<b>41d</b>	Bn	60%
<b>41e</b>	CH <sub>2</sub> OBn	60%
<b>41f</b>		58%
<b>41g</b>		55%
<b>41h</b>		54%
<b>41i</b>		54%

I nuovi glicosidi **41f-i** sono interessanti per le loro proprietà che includono chiralità, rigidità, lipofilicità e idrofilicità, e rappresentano interessanti scaffolds da utilizzare nella sintesi di molecole di interesse biologico. Sono stati sintetizzati a partire dai corrispondenti zuccheri benzilati, seguendo lo stesso approccio sintetico. In contrasto con il rapporto di 1:1 degli alchil-tiofeni **38a-c**, le ciclizzazioni dei derivati dei carboidrati e del derivato fenilico **37d-i** portano a miscele di diastereoisomeri *trans-cis*, in rapporti compresi tra 1.5:1

e 2:1. Ciò indica che i fattori sterici svolgono un ruolo determinante durante la cicloaddizione intramolecolare. Le strutture dei prodotti **40a-i** sono state stabilite dai dati di spettri  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  NMR. Per esempio, per il composto **40e**, lo spettro  $^1\text{H}$  NMR mostra i segnali caratteristici del protone 4 del tiofene a 6,17 ppm e i protoni del metilene in posizione 3, benzilossimetilene e del benzilmetilene a 3,71, 4.79 e 4,89 ppm, rispettivamente. I segnali corrispondenti agli atomi di carbonio nello spettro  $^{13}\text{C}$  NMR sono presenti a 66.4, 64,2 e 73.7, rispettivamente, insieme ai quattro atomi di carbonio aromatici. La spettroscopia IR è stata di grande aiuto per l'identificazione dei composti **41a-i**, poichè mostrano una banda di assorbimento ampia, compresa tra 3400 e 3200  $\text{cm}^{-1}$  per i gruppi amminici e idrossilici, che appaiono come due i picchi slargati nelle regioni comprese tra 3.0-3.8 e 6.2-6,8 ppm in alcuni dei loro spettri  $^1\text{H}$  NMR. Gli spettri  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  NMR dei composti e-i mantengono i segnali caratteristici dei gruppi dello zucchero.

## 5. Conclusioni

I monomeri pirrolidinonici **13** e **16** sono stati ottenuti con buone rese, attraverso una strategia sintetica che prevede come tappa chiave la reazione di cicloaddizione 1,3-dipolare asimmetrica, la quale ha permesso l'ottenimento di composti finali enantiomericamente puri. Ciò è stato possibile con l'utilizzo dell'ausiliare chirale sul dipolarofilo, il derivato del sultame di Oppolzer, *N*-acriloil-(2*R*)-10,2-sultame **10**, il quale ha condotto alla sintesi dell'intermedio issossazolidinico **11** con elevata stereoselettività. La stereochimica dei composti finali, è stata infatti definita in questa tappa della strategia sintetica, poiché le seguenti reazioni (idrogenazione, Mitsunobu) sono state effettuate su composti puri, per i quali è stata inoltre definita la configurazione assoluta, mediante l'impiego del "Metodo degli esteri di Mosher". La struttura ciclica dei composti finali **13** e **16** conferisce una stabilità strutturale maggiore di quella presente nei PNA lineari, e ciò evita l'aggregazione dei corrispondenti polimeri, e conferisce una maggiore affinità di binding con DNA ed RNA. Il monomero pirrolidinico **21**, può essere facilmente ottenuto dall'intermedio **20**, al quale si è arrivati attraverso una riduzione del carbonile in posizione 2, a metilene, previa protezione del 3-OH del composto **12**, seguendo la strategia sintetica elaborata da Nielsen. Il vantaggio della sintesi descritta in questa tesi è la netta riduzione del numero degli steps necessari per arrivare al prodotto finale, in particolare da 14 steps si passa a soli 7 steps totali. L'anello pirrolidinico di **21** possiede un'alta solubilità in acqua dovuta alla presenza dell'azoto basico che risulta protonato a pH fisiologico.

Lo studio delle cicloaddizioni asimmetriche attraverso la sintesi dei nitroni **28a,n** e dei corrispondenti cicloaddotti **29a,n** è utile per uno sviluppo futuro nella sintesi di monomeri di PNA sostituiti attraverso cicloaddizioni-1,3-dipolari in cui l'asimmetria è indotta da nitroni chirali, attraverso le quali potranno essere inseriti diversi sostituenti che ne aumentino ulteriormente la solubilità nei mezzi biologici, e di conseguenza ne permettano l'utilizzo in campo terapeutico.

Infine lo studio delle cicloaddizioni 1,3-dipolari intramolecolari ha permesso la sintesi di derivati del tiofene, interessanti per la loro potenziale attività biologica (**41a-i**). Inoltre i derivati **41f-i**, che presentano funzioni di carboidrati, hanno, in aggiunta, utili proprietà chimiche quali chiralità e idrofilicità.



## 6. Parte sperimentale

### 6.1 Materiali e Metodi

Tutti i composti di partenza commerciali impiegati (Acros, Aldrich, Merck, Sigma, Fluka) sono stati usati direttamente senza previa purificazione salvo indicazioni nel procedimento sperimentale. Tutti i solventi utilizzati come eluenti in cromatografia sono stati impiegati di qualità Multisovent® o HPLC preparativo

Cloruro di metilene, etere dietilico e tetraidrofurano anidri sono stati preparati a partire da solventi di qualità *HPLC preparativo* e anidrificati con un sistema SPS di Innovative. Altri solventi anidri impiegati: toluene, distillato su una sospensione di idruro di calcio, sotto atmosfera di argon; trietilammina, distillata da una miscela dell'ammina corrispondente con idrossido di potassio, sotto atmosfera di argon. I solventi impiegati per l'HPLC sono stati comprati della detta qualità. I poteri ottici rotatori sono stati misurati in un polarimetro Jasco DIP-370 alla temperatura indicata, in una cella di 1 dm, con differenti diametri, e usando come solventi cloroformio o metanolo per HPLC. Gli spettri di risonanza magnetica nucleare sono stati registrati con i seguenti strumenti: Varian Gemini 200 MHz; Varian Unity 300 MHz; Bruker AVANCE-II 300 MHz; Bruker AVANCE 400 MHz; Bruker AVANCE 500 MHz. Sono stati impiegati solventi deuterati commerciali, conservati con setacci molecolari di 4Å senza purificazione addizionale. I valori per gli spostamenti chimici sono espressi in  $\delta$  (ppm), prendendo come riferimento il tetrametilsilano, e le costanti di accoppiamento ( $J$ ) in Hz. La determinazione quantitativa di C, H e N è stata realizzata in un microanalizzatore Perkin-Elmer 240C. Le misure realizzate sono comparabili con i risultati teorici calcolati. Sono stati registrati spettri di massa ad alta risoluzione in uno spettrometro Bruker MicroTof-Q con ionizzazione ESI. La cromatografia su strato sottile è stata effettuata su lastre di gel di silice Polygram® SILG/UV254 (Macherey-Nagel), su alluminio, visualizzando le macchie con luce UV di 254 nm, o con i seguenti rivelatori: soluzione di acido fosfomolibdico in EtOH al 2%; soluzione acida di *p*-anisaldeide al 2%. La cromatografia in colonna è stata realizzata con un supporto solido di gel di silice Chromagel (SDS, 40-60  $\mu\text{m}$  y 70-230  $\mu\text{m}$ ). Le analisi per HPLC sono state realizzate in un cromatografo Waters 2695Alliance, rilevando i picchi con un detector a fotodiodo Waters 2996. e purificazioni semipreparative per HPLC, con una pompa Waters 510 825 mL/min) e un detector di luce UV a doppia banda.

### Sintesi di 2-(idrossimmino)acetato di etile (2)

Una soluzione di etil gliossalato (8.5 ml, 50% in toluene, 43.2 mmol), idrossilammina cloridrato (3 g, 43.1 mmol) e  $\text{NaHCO}_3$  (7 g, 86.4 mmol), in toluene (75 ml), è stata agitata a temperatura ambiente per 12 h. La miscela di reazione è stata, in seguito, filtrata ed evaporata a pressione ridotta. Il residuo è stato estratto con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , e la fase organica anidrificata con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  e filtrata. Il composto ottenuto **2** (3.53 g) è stato utilizzato nello step successivo senza ulteriore purificazione. Olio giallo; resa: 70%.  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.34 (t, 3H), 4.33 (q, 2H), 7.56 (s, 1H), 9.10 (bs, 1H).

### Sintesi di 2-(idrossiammino)acetato di etile (3)

Una soluzione di acido cloridrico 7 N in EtOH (40 ml) è stata aggiunta a  $0^\circ\text{C}$ , goccia a goccia, ad una soluzione di ossima **2** (3.53 g, 30.14 mmol) e  $\text{BH}_3\cdot\text{Py}$  (18.7 ml, 8 M, 149.6 mmol) in EtOH (60 ml). Si lascia reagire a temperatura ambiente per 2 h. Trascorso questo tempo, il solvente è eliminato a bassa pressione ed il residuo disciolto in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . La soluzione risultante si neutralizza con  $\text{NaCO}_3$  solido, si estrae con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , e le fasi organiche riunite sono anidificate, filtrate ed evaporate a pressione ridotta. L'idrossilammina ottenuta **3** (1.9 g) è stata impiegata nella sintesi senza ulteriore purificazione. Solido bianco; resa: 55%.  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.30 (t, 3H), 3.67 (s, 2H), 4.25 (q, 2H), 5.37 (br, 2H).

### Sintesi di (Z)-N-(2-(*tert*-butossicarbonilammino)etilidene)-2-etossi-2-ossotetanamina ossido (4)

Ad una soluzione di idrossilammina **3** (0.5 g, 4.20 mmol) e  $\text{MgSO}_4$  (1.56 g, 12.6 mmol), in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  anidro (10 ml), è stata aggiunta N-Boc-glicinale (0.66 g, 4.20 mmol). La miscela di reazione è stata agitata magneticamente per 4 h a temperatura ambiente, ed in seguito, filtrata. Il filtrato ottenuto è stato concentrato a pressione ridotta e purificato attraverso cromatografia flash (Acetato di etile/n-esano 3:2). Il composto **4** è stato ottenuto come olio giallo con una resa del 30% (0.33 g).

### Procedura generale per la sintesi delle isossazolidine 5 e 6

*Metodo A:* Una soluzione di nitrone **4** (0.33 g, 1.26 mmol), ed acrilato di metile (0.09 ml, 1.26 mmol) in toluene, è stata riscaldata a  $60^\circ\text{C}$  per 12 h, in fiala chiusa. La miscela di reazione è stata concentrata a pressione ridotta e, mediante cromatografia flash ( $\text{AcOEt}/n$ -

esano 2:3), è stato purificato il crudo di reazione ottenendo un olio (0.1 g, resa 25%) costituito da una miscela delle isossazolidine **5** e **6** (*trans/cis* di 1:0.6).

**Metodo B:** Una soluzione di idrossilammina **3** (2.3 g, 19.3 mmol), N-Boc-glicinale (3.9 g, 32.7 mmol) ed acrilato di metile (1.53 ml, 20.9 mmol) in toluene, è stata riscaldata a 60°C per 12 h, in fiala chiusa. La miscela di reazione è stata quindi evaporata a pressione ridotta e dopo una purificazione attraverso cromatografia flash, utilizzando come miscela eluente acetato di etile/n-esano in rapporto 2:3, è stato ottenuto un olio (4.6 g, resa 70%) costituito da una miscela delle isossazolidine **5** e **6** in rapporto diastereoisomerico *trans/cis* di 1:0.6. Una parte di tale miscela è stata sottoposta a purificazione per HPLC (AcOEt/n-esano 5:95) permettendo l'isolamento dell'isomero maggioritario *trans* (**5**): 3-((*tert*-butossicarbonilammino)metil)-2-(2-etossi-2-ossoetil)isossazolidina-5-carbossilato di metile <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz) δ 1.29 (t, 3H), 1.44 (s, 9H), 2.42-2.47 (m, 1H), 2.57 (dd, 1H, *J* = 13.5, 6.5 Hz), 3.14-3.18 (m, 1H), 3.22-3.25 (m, 1H), 3.36-3.38 (m, 1H), 3.56 (d, 1H, *J* = 16.5 Hz), 3.76 (s, 3H), 3.90 (d, 1H, *J* = 16.5 Hz), 4.21 (q, 2H), 4.56 (dd, 1H, *J* = 8.5, 6.5 Hz), 5.17 (bs, 1H). <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 200 MHz) δ 172.6, 168.9, 156.2, 79.5, 76.6, 65.3, 61.2, 59.4, 52.6, 42.1, 35.7, 28.5, 14.3. HRMS: *m/z* [M<sup>+</sup> Na]<sup>+</sup> calcolata per C<sub>15</sub>H<sub>26</sub>N<sub>2</sub>NaO<sub>7</sub> 369,1638 trovata 346,1637. Anal. Calc. per C<sub>15</sub>H<sub>26</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>: C, 52.01; H, 7.57; N, 8.09. Trovata: C, 52.12; H, 7.59; N, 8.14 IR (film, cm<sup>-1</sup>) 3390 (NH), 2978 (CH), 1743 (CO), 1712 (CO).

### Procedura generale per la sintesi dei pirrolidinoni **7** e **8**

**Metodo A:** Ad una soluzione dei cicloaddotti **5** e **6** (0.4 g, 1.15 mmol) in THF (11.5 ml) sono stati aggiunti acido acetico (23 ml) e acqua (11.5 ml). La soluzione ottenuta è stata trattata con zinco in polvere (0.47 g, 7.01 mmol) e riscaldata a 60 °C per 5 h. La miscela di reazione è stata, quindi, raffreddata fino a raggiungere la temperatura ambiente e filtrata. Il filtrato è stato trattato con una soluzione satura di NaCl, ed in seguito di NaHCO<sub>3</sub> e la risultante miscela estratta con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. La fase organica è stata evaporata a pressione ridotta ed il residuo, purificato attraverso una colonna cromatografica flash, ha fornito una miscela di pirrolidononi **7** e **8** come olio incolore (0.07 g, resa 20%).

**Metodo B:** Ad una soluzione dei cicloaddotti **5** e **6** (0.5 g, 1.44 mmol) in EtOH (22 ml) è stato aggiunto Pd(OH)<sub>2</sub>-C (54 mg, 0.35 mmol) e la miscela ottenuta è stata mantenuta in agitazione magnetica per 48 h a temperatura ambiente, sotto una pressione di 100 atm. La miscela di reazione è stata, quindi, filtrata ed evaporata a pressione ridotta fornendo una miscela di pirrolidononi **7** e **8** (0.48 g, resa 99%). Olio incolore. Isomero maggioritario *cis* (**7**)

: 2-(5-((*tert*-butossicarbonilammino)metil)-3-idrossi-2-ossopirrolidin-1-il) acetato di etile.  
<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ 1.27 (t, 3H), 1.43 (s, 9H), 1.77 (dt, 1H, *J* = 7.2, 13.4 Hz), 2.52 (ddd, 1H, *J* = 7.2, 8.5, 13.4 Hz), 3.30-3.48 (m, 2H), 3.77-3.83 (m, 1H), 3.98 (d, 1H), 4.16-4.22 (m, 3H), 4.37 (m, 1H), 5.13 (bs, 1H). Anal. Calc. per C<sub>14</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>: C, 53.15; H, 7.65; N, 8.86. Trovata: C, 53.11; H, 7.60; N, 8.81.

#### Sintesi di *N*-acriloil-(2*R*)-10,2-sultame (10)

Ad una soluzione del sultame di Oppolzer (1.0 g, 4.6 mmol), rame in polvere (0.58 g, 4.6 mmol), cloruro di rame (0.46 g, 4.6 mmol), e Et<sub>3</sub>N (0.63 ml, 4.6 mmol) in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (24 ml), è stata aggiunto acriloil cloruro (1.5 ml, 18.4 mmol) in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (11.4 ml). Dopo 1 h è stata aggiunta DMAP (0.34 g, 2.8 mmol), e la risultante miscela è stata agitata per 3 h a temperatura ambiente. Trascorso tale tempo, la soluzione ottenuta è stata diluita con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> e lavata, in un primo momento con una soluzione satura di NaHCO<sub>3</sub>, e dopo con H<sub>2</sub>O ed una soluzione satura di NaCl. La fase organica è stata concentrata a pressione ridotta ed il residuo purificato attraverso una cromatografia flash (AcOEt/n-esano 1:9). Solido bianco; resa: 74%. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 0.97 (s, 3H), 1.17 (s, 3H), 1.33-1.46 (m, 2H), 1.86-1.97 (m, 3H), 2.07-2.19 (m, 2H), 3.48 (dd, 2H, *J* = 13.8 Hz), 3.94 (dd, 1H, *J* = 5.1, 7.6 Hz), 5.85 (dd, 1H, *J* = 1.6, 10.4 Hz), 6.50 (dd, 1H, *J* = 1.6, 16.7 Hz), 6.87 (dd, 1H, *J* = 10.4, 16.7 Hz).

#### Sintesi di *N*-(((3*R*,5*R*)-3-*tert*-butossicarbonilamminometil-2-etossicarbonilmetil-5-isossazolidinil)carbonil)-(2*R*)-bornano-10,2-sultame (11)

Una soluzione di idrossilammina **3** (0.4 g, 3.35 mmol), *N*-Boc-glicinale (0.82 g, 5.15 mmol) e *N*-acriloil-(2*R*)-10,2-sultame **10** (0.92 g, 3.41 mmol) in toluene, è stata riscaldata a 60°C per 18 h, in fiala chiusa. La miscela di reazione è stata quindi evaporata a pressione ridotta e dopo una purificazione attraverso una colonna cromatografica (AcOEt/n-esano 2:3) è stato ottenuto un olio (1.4 g, resa 76%) costituito da una miscela delle isossazolidine in rapporto diastereoisomerico *trans*:*cis* 1:0.2. Tale miscela è stata in seguito separata nelle singole isossazolidine attraverso una purificazione per HPLC (*i*-PrOH/n-esano 5:95) che ha permesso di isolare il cicloaddotto maggioritario **11**. Olio incolore; [α]<sub>D</sub><sup>25</sup> = -73 (*c* 1.00, CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 0.96 (s, 3H), 1.13 (s, 3H), 1.27 (t, 3H, *J* = 6.9 Hz), 1.33-1.40 (m, 2H), 1.42 (s, 9H), 1.87-1.92 (m, 3H), 2.02-2.12 (m, 2H), 2.43-2.49 (m, 1H), 2.65 (dt, 1H, *J* = 7.1, 13.7 Hz), 3.08-3.15 (m, 1H), 3.19-3.25 (m, 1H), 3.41 (d, 1H, *J* = 13.8

Hz), 3.44-3.47 (m, 1H), 3.50 (d, 1H,  $J = 13.8$  Hz) 3.56 (d, 1H,  $J = 16.5$  Hz), 3.88 (dd, 1H), 3.96 (d, 1H,  $J = 16.5$  Hz), 4.20 (q, 2H,  $J = 6.9$  Hz), 5.05 (dd, 1H,  $J = 7.1, 8.0$  Hz), 5.20 (bs, 1H).  $^{13}\text{C}$  NMR (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  14.1, 19.9, 20.9, 26.4, 28.4, 32.9, 38.2, 40.1, 42.2, 44.7, 47.8, 48.9, 52.9, 59.5, 60.9, 71.5, 77.5, 79.4, 85.5, 156.6, 168.9, 171.1. HRMS  $m/z$   $[\text{M}^+ \text{Na}]^+$  Calc. per  $\text{C}_{24}\text{H}_{39}\text{N}_3\text{NaO}_8\text{S}$ : 552.2356. Trovata: 552.2350. Anal. Calc. per  $\text{C}_{24}\text{H}_{39}\text{N}_3\text{O}_8\text{S}$ : C, 54.42; H, 7.42; N, 7.93. Trovata: C, 54.29; H, 7.51; N, 8.11. IR (film,  $\text{cm}^{-1}$ ) 3400 (NH), 2927 (CH), 1709 (CO).

**Sintesi 2-((3*R*,5*R*)-5-(((*tert*-butossicarbonil)ammino)metil)-3-idrossi-2-ossopirrolidin-1-il) acetato di etile (12)**

Ad una soluzione del cicloaddotto **11** (0.4 g, 0.75 mmol) in EtOH (11.5 ml) è stato aggiunto  $\text{Pd}(\text{OH})_2\text{-C}$  (28 mg, 0.19 mmol) e la miscela ottenuta è stata agitata per 48 h a temperatura ambiente, sotto una pressione di 100 atm. La miscela di reazione è stata, quindi, filtrata, evaporata a pressione ridotta, ed il residuo purificato attraverso una colonna flash, utilizzando acetato di etile come eluente. Il prodotto eluito **12** (0.21 g, resa 93%) presenta l'aspetto di olio incolore.  $[\alpha]_D^{25} = +59$  ( $c$  0.95,  $\text{CHCl}_3$ );  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1.27 (t, 3H,  $J = 7.0$  Hz), 1.42 (s, 9H), 1.77 (dt, 1H,  $J = 7.2, 13.4$  Hz), 2.52 (ddd, 1H,  $J = 7.2, 8.5, 13.4$  Hz), 3.30-3.41 (m, 2H), 3.77-3.83 (m, 1H), 3.98 (m, 1H), 4.16-4.22 (m, 2H), 4.37 (q, 2H,  $J = 7.0$  Hz), 5.27 (bs, 2H, ex.  $\text{D}_2\text{O}$ ).  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  13.9, 28.4, 30.8, 41.1, 42.6, 55.2, 61.7, 68.9, 79.8, 156.2, 168.8, 175.9. HRMS  $m/z$   $[\text{M}^+ \text{Na}]^+$  Calc. per  $\text{C}_{14}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{NaO}_6$ : 339.1532. Trovata: 339.1534. Anal. Calc. per  $\text{C}_{14}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_6$ : C, 53.15; H, 7.65; N, 8.86. Trovata: C, 53.06; H, 7.77; N, 8.93. IR (film,  $\text{cm}^{-1}$ ) 3375 (OH), 2970 (CH), 1746 (CO), 1700 (CO).

**Sintesi di 2-((3*S*,5*R*)-3-(6-ammino-9*H*-purin-9-il)-5-(((*tert*-butossicarbonil)ammino)metil)-2-ossopirrolidin-1-il)acetato di etile (13)**

Il pirrolidinone **10** (0.15 g, 0.47 mmol) è stato coevaporato con  $\text{CH}_3\text{CN}$  anidro e in seguito disciolto in diossano anidro (10 ml) Alla soluzione ottenuta sono state aggiunte trifenilfosfina (0.32 g, 1.18 mmol) e adenina (0.32 g, 2.37 mmol) ottenendo una sospensione alla quale è stato addizionato lentamente (30 min) DIAD (0.186 ml, 0.95 mmol). La reazione procede a temperatura ambiente per 12 h e in seguito la miscela di reazione è stata evaporata a pressione ridotta. Il residuo purificato, in un primo momento per colonna flash (AcOEt 100%), ed in seguito per HPLC ( $\text{H}_2\text{O}/\text{MeOH}$  2:3) ha fornito il

composto **13** (0.16 g) con una resa dell'80%. Olio incolore;  $[\alpha]_D^{25} = -1$  ( $c$  0.75, MeOH);  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1.32 (t, 3H,  $J = 7.0$  Hz), 1.49 (s, 9H), 2.64-2.79 (m, 2H), 3.23 (dt, 1H,  $J = 4.8, 14.9$  Hz), 3.60- 3.66 (m, 1H), 3.96-4.0 (m, 2H), 4.25 (m, 2H), 4.44 (d, 1H,  $J = 7.0$  Hz), 5.39 (m, 1H), 5.67 (bs, 3H, ex.  $\text{D}_2\text{O}$ ), 7.84 (s, 1H), 8.29 (s, 1H).  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  14.2, 28.6, 30.6, 42.0, 44.4, 54.7, 57.8, 61.9, 77.0, 119.8, 146.7, 147.2, 152.9, 155.4, 156.1, 169.3, 172.4. HRMS  $m/z$   $[\text{M}^+ \text{Na}]^+$  Calc. per  $\text{C}_{19}\text{H}_{27}\text{N}_7\text{NaO}_5$ : 456.1971. Trovata: 456.1973. Anal. Calc. per  $\text{C}_{19}\text{H}_{27}\text{N}_7\text{O}_5$ : C, 52.65; H, 6.28; N, 22.62. Trovata: C, 52.49; H, 6.39; N, 22.42. IR (film,  $\text{cm}^{-1}$ ) 3355 (NH), 2924 (CH), 1699 (CO), 1650 (CO).

#### Sintesi di (3*S*,5*R*)-5-(((*tert*-butossicarbonil)ammino)metil)-1-(2-etossi-2-ossoetil)-2-ossopirrolidin-3-il benzoato (**14**)

Il pirrolidinone **12** (0.2 g, 0.63 mmol) è stato coevaporato con  $\text{CH}_3\text{CN}$  anidro (1.3 ml) ed in seguito disciolto in THF anidro (2.1 ml). Alla risultante soluzione è stata aggiunta trifenilfosfina (0.513 g, 1.89 mmol) disciolta in THF (2.2 ml) a  $0^\circ\text{C}$ , ed una soluzione di acido benzoico (0.38 g, 3.16 mmol) in toluene (6 ml). La miscela ottenuta è stata lasciata in agitazione per 2 minuti ed in seguito è stato addizionato, goccia a goccia, DIAD (0.622 ml, 3.16 mmol). La reazione procede a temperatura ambiente per 12 h ed in seguito è stato aggiunto acetato di etile. La soluzione ottenuta è stata lavata con acido citrico 0.5 M, con una soluzione satura di NaCl, ed infine con una soluzione satura di  $\text{NaHCO}_3$ . Le fase organica, anidrificata con  $\text{NaSO}_4$  e filtrata, ha fornito l'intermedio **14** come solido bianco (0.14 g, resa 54%), dopo purificazione attraverso cromatografia flash a gradiente, usando una miscela eluente di acetato di etile/n-esano 1:4 e poi 1:1.  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.30 (t, 3H), 1.48 (s, 9H), 2.27 (td, 1H,  $J = 13.6, 8.9$  Hz) 2.69 (ddd, 1H,  $J = 13.6, 8.9$  Hz), 3.10-3.16 (m, 1H), 3.57, 3.63 (m, 1H), 3.85 (d, 1H,  $J = 17.7$  Hz), 4.23 (q, 2H), 4.42 (d, 1H,  $J = 17.7$  Hz), 5.46 (bs, 1H), 5.67 (t, 1H,  $J = 8.6$  Hz), 7.40-7.47 (m, 2H), 7.54-7.58 (m, 1H), 8.05-8.07 (m, 2H). IR (film,  $\text{cm}^{-1}$ ) 3358(NH), 2925 (CH), 1712 (CO).

#### Sintesi di 2-((3*S*,5*R*)-5-(((*tert*-butossicarbonil)ammino)metil)-3-idrossi-2-ossopirrolidin-1-il) acetato di etile (**15**)

Una soluzione di **14** (0.14 g, 0.33 mmol) in EtOH (2.3 ml), è stata trattata con EtONa (0.07 g, 0.99 mmol), in EtOH (1.1 ml) aggiunto goccia a goccia, a  $0^\circ\text{C}$ . La risultante miscela è stata agitata magneticamente a  $0^\circ\text{C}$  per 30 min. Quindi è stata aggiunto  $\text{NH}_4\text{Cl}$  e

la soluzione è estratta con AcOEt e poi con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Le fasi organiche riunite, anidificate e filtrate sono evaporate a pressione ridotta. Attraverso una purificazione per colonna flash, utilizzando come eluente una miscela 1:1 di acetato di etile/n-esano, è stato ottenuto il pirrolidinone **15** (0.098 g) come olio incolore, con una resa del 98%.  $[\alpha]_D^{25} = +2$  (*c* 1.00, CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1.21 (t, 3H, *J* = 7.1 Hz), 1.36 (s, 9H), 2.01-2.09 (m, 1H), 2.32-2.38 (m, 1H), 2.99-3.03 (m, 1H), 3.40-3.45 (m, 1H), 3.67-3.69 (m, 1H), 3.79 (d, 1H, *J* = 17.8 Hz), 4.13 (q, 2H, *J* = 7.1 Hz), 4.20 (d, 1H, *J* = 17.8 Hz), 4.23 (m, 1H), 5.56 (bs, 2H, ex. D<sub>2</sub>O). <sup>13</sup>C NMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 14.3, 28.5, 31.9, 41.8, 43.7, 58.2, 61.7, 68.4, 79.6, 156.4, 169.3, 176.3. HRMS *m/z* [M<sup>+</sup> Na]<sup>+</sup> Calc. per C<sub>14</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>NaO<sub>6</sub>: 339.1532. Trovata: 339.1535. Anal. Calc. per C<sub>14</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>: C, 53.15; H, 7.65; N, 8.86. Trovata: C, 53.21; H, 7.80; N, 8.66. IR (film, cm<sup>-1</sup>) 3346 (OH), 2923 (CH), 1743 (CO), 1690 (CO).

**Sintesi di 2-((3*R*,5*R*)-3-(6-ammino-9*H*-purin-9-il)-5-(((*tert*-butossicarbonil)ammino)metil)-2-ossopirrolidin-1-il)acetato di etile (**16**)**

Il pirrolidinone **15** (0.11 g, 0.35 mmol) è stata coevaporato con CH<sub>3</sub>CN anidro e in seguito disciolto in diossano anidro (7.3 ml). Alla soluzione ottenuta sono state aggiunte trifenilfosfina (0.23 g, 0.85 mmol) e adenina (0.23 g, 0.85 mmol) ottenendo una sospensione alla quale è addizionato lentamente (30 min) DIAD (0.13 ml, 0.66 mmol). La reazione procede a temperatura ambiente per 12 h e in seguito la miscela di reazione è stata evaporata a pressione ridotta. Il residuo purificato, inizialmente attraverso colonna flash, usando come eluente acetato di etile (100%), ed in seguito per cromatografia ad alta pressione, (HPLC: H<sub>2</sub>O/MeOH 2:3) ha fornito il composto **16** (0.14 g) con una resa dell'81%. Solido bianco.  $[\alpha]_D^{25} = -3$  (*c* 1.00, MeOH); <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1.29 (t, 3H, *J* = 7.1 Hz), 1.46 (s, 9H), 2.62 (ddd, 1H, *J* = 14.2, 8.8, 7.7 Hz), 2.88 (ddd, 1H, *J* = 14.2, 10.9, 8.5 Hz), 3.29 (ddd, 1H, *J* = 14.6, 3.1, 1.7 Hz), 3.69-3.76 (m, 1H), 3.81 (d, 1H, *J* = 17.9 Hz), 4.18-4.24 (m, 3H), 4.56 (d, 1H, *J* = 17.9 Hz), 5.17 (dd, 1H, *J* = 8.8, 10.9 Hz), 5.67 (bs, 3H), 7.84 (s, 1H), 8.38 (s, 1H). <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 14.3, 27.3, 28.7, 40.9, 42.3, 53.6, 55.5, 61.8, 79.7, 120.2, 146.8, 147.1, 152.8, 155.6, 156.7, 169.7, 171.9. HRMS *m/z* [M<sup>+</sup> Na]<sup>+</sup> Calc. per C<sub>19</sub>H<sub>27</sub>N<sub>7</sub>NaO<sub>5</sub>: 456.1971. Trovata: 456.1974. Anal. Calc. per C<sub>19</sub>H<sub>27</sub>N<sub>7</sub>O<sub>5</sub>: C, 52.65; H, 6.28; N, 22.62. Trovata : C, 52.81; H, 6.11; N, 22.58. IR (film, cm<sup>-1</sup>) 3355 (NH), 2924 (CH), 1695 (CO), 1650 (CO).

### **Procedura generale per la sintesi degli esteri di Mosher 17a,b e 18a,b**

Ad una soluzione di pirrolidinone (**12,15**) (1.0 mmol) in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> anidro (30.6 ml) sono stati aggiunti il corrispondente acido 2-metossi-2-fenil-2-(trifluorometil)acetico (1.24 mmol), DCC (1.5 mmol) e DMAP (0.1 mmol). La miscela ottenuta è stata mantenuta in agitazione magnetica per 12 h a temperatura ambiente ed in seguito si elimina il solvente per evaporazione a pressione ridotta. Il residuo ottenuto è stato purificato mediante colonna flash, utilizzando come miscela eluente acetato di etile/n-esano 3:7. Un ulteriore purificazione è stata eseguita utilizzando una cromatografia ad alta pressione (HPLC: *i*-PrOH/n-esano 7:93).

#### **(*R*)-((3*R*,5*R*)-5-(((*tert*-butossicarbonil)ammino)metil)-1-(2-etossi-2-ossoetil)-2-osso pirrolidin-3-il) 3,3,3-trifluoro-2-metossi-2-fenilpropanoato (**17a**)**

Da 0.1g (0.31 mmol) di **12**, con 0.097 g di DCC, 0.0038 g di DMAP e (*R*)-MTPA (0.092g, 0.38 mmol), in 9.5 ml di CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> anidro, seguendo la procedura sopra descritta, sono stati ottenuti 0.08 g (0.15 mmol) di **17a**. Solido bianco; resa: 48%,  $[\alpha]_D^{25} = +21.6360$  (*c* 0.25, CHCl<sub>3</sub>). <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)  $\delta$  1.27 (t, 3H), 1.38 (s, 9H), 2.33-2.36 (m, 1H), 2.63 (ddd, 1H, *J*= 13.8, 8.8, 7.3 Hz), 3.15-3.19 (m, 1H), 3.30-3.35 (m, 1H), 3.64 (s, 3H), 3.82-3.87 (m, 1H), 4.04 (d, 1H), 4.17 (d, 1H), 4.18-4.23 (m, 2H), 4.82 (bs, 1H), 5.66 (dd, 1H, *J* = 8.8, 7.2 Hz), 7.40-7.42 (m, 3H), 7.59-7.61 (m, 2H). <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 200MHz)  $\delta$  170.2, 168.6, 165.9, 156.3, 131.4, 129.7, 128.7, 127.3, 124.5, 121.6, 83.2, 80.2, 71.2, 61.9, 55.9, 55.4, 43.3, 41.5, 29.8, 28.4, 28.0, 14.2. HRMS: *m/z* [M + Na]<sup>+</sup> Calc. per C<sub>24</sub>H<sub>31</sub>F<sub>3</sub>N<sub>2</sub>NaO<sub>8</sub>: 555,1931 trovata: 555,1898. Anal. Calc. per C<sub>24</sub>H<sub>31</sub>F<sub>3</sub>N<sub>2</sub>O<sub>8</sub>: C, 54.13; H, 5.87; F, 10.70; N, 5.26; O, 24.04 Trovata: C, 54.13; H, 5.87; F, 10.70; N, 5.26; O, 24.0. IR (film, cm<sup>-1</sup>) 3325(NH), 2925 (CH), 1625 (CO).

#### **(*S*)-((3*R*,5*R*)-5-(((*tert*-butossicarbonil)ammino)metil)-1-(2-etossi-2-ossoetil)-2-osso pirrolidin-3-il) 3,3,3-trifluoro-2-metossi-2-fenilpropanoato (**17b**)**

Da 0.1g (0.31 mmol) di **12**, con 0.097 g di DCC, 0.0038 g di DMAP e (*S*)-MTPA (0.092g, 0.38 mmol), in 9.5 ml di CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> anidro, seguendo la procedura sopra descritta, sono stati ottenuti 0.08 g (0.15 mmol) di **17b**. Solido bianco; resa: 48%,  $[\alpha]_D^{25} = +21.8900$  (*c* 1, CHCl<sub>3</sub>). <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)  $\delta$  1.27 (t, 3H), 1.42 (s, 9H), 1.94 (ddd, 1H, *J* = 13.8, 7.7 Hz), 2.67 (ddd, 1H, *J*= 13.6, 9.0, 7.3 Hz), 3.25-3.29 (m, 1H), 3.42-3.48 (m, 1H), 3.54 (s, 3H), 3.84-3.89 (m, 1H), 4.02 (d, 1H), 4.12-4.23 (m, 3H), 5.10 (bs, 1H), 5.56 (dd,



1H,  $J = 9.0, 8.2$  Hz), 7.40-7.42 (m, 3H), 7.58-7.60 (m, 2H).  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 200 MHz)  $\delta$  170.2, 168.6, 165.9, 156.3, 131.4, 129.7, 128.4, 127.7, 124.5, 121.6, 80.0, 71.6, 61.8, 55.5, 55.1, 43.1, 41.2, 29.7, 28.2, 28.0, 14.0. HRMS:  $m/z$   $[\text{M} + \text{Na}]^+$  Calc. per  $\text{C}_{24}\text{H}_{31}\text{F}_3\text{N}_2\text{NaO}_8$ : 555,1931 trovata: 555,1939. Anal. Calc. per  $\text{C}_{24}\text{H}_{31}\text{F}_3\text{N}_2\text{O}_8$ : C, 54.13; H, 5.87; F, 10.70; N, 5.26; O, 24.04 Trovata: C, 54.23; H, 5.72; F, 10.67; N, 5.22; O, 23.9. IR (film,  $\text{cm}^{-1}$ ) 3325 (NH), 2923 (CH), 1626 (CO).

**(*R*)-((3*S*,5*R*)-5-(((*tert*-butossicarbonil)ammino)metil)-1-(2-etossi-2-ossoetil)-2-osso pirrolidin-3-il)3,3,3-trifluoro-2-metossi-2-fenilpropanoato (18a)**

Attraverso la procedura sopra descritta, da 0.05 g (0.155 mmol) di **15**, con 0.048 g di DCC, 0.0019 g di DMAP e (*R*)-MTPA (0.0046 g, 0.19 mmol), in 4.75 ml di  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  anidro, sono stati ottenuti 0.04 g (0.72 mmol) di **18a**. Solido bianco; resa: 48%,  $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -0.8316$  ( $c$  0.90,  $\text{CHCl}_3$ ).  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.28 (t, 3H), 1.48 (s, 9H), 2.10 (td, 1H,  $J = 13.5, 8.9$  Hz), 2.60 (dd, 1H,  $J = 13.2, 9.4$  Hz), 3.04 (d, 1H), 3.66 (s, 3H), 3.67-3.74 (m, 3H), 4.17-4.26 (m, 2H), 4.41 (d, 1H,  $J = 17.7$  Hz), 5.57 (bs, 1H), 5.80 (t, 1H,  $J = 8.9$  Hz), 7.39-7.42 (m, 3H), 7.57-7.59 (m, 2H).  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 200 MHz)  $\delta$  170.4, 169.1, 165.7, 156.5, 132.3, 129.6, 128.4, 127.2, 125.6, 121.2, 80.1, 70.6, 62.0, 58.5, 55.7, 44.1, 41.7, 29.3, 28.3, 14.5. HRMS:  $m/z$   $[\text{M} + \text{Na}]^+$  Calc. per  $\text{C}_{24}\text{H}_{31}\text{F}_3\text{N}_2\text{NaO}_8$ : 555,1931 trovata: 555,1937. Anal. Calc. per  $\text{C}_{24}\text{H}_{31}\text{F}_3\text{N}_2\text{O}_8$ : C, 54.13; H, 5.87; F, 10.70; N, 5.26; O, 24.04 Trovata: C, 54.03; H, 5.77; F, 10.66; N, 5.24; O, 24.11. IR (film,  $\text{cm}^{-1}$ ) 3325 (NH), 2924 (CH), 1625 (CO).

**(*S*)-((3*S*,5*R*)-5-(((*tert*-butossicarbonil)ammino)metil)-1-(2-etossi-2-ossoetil)-2-osso pirrolidin-3-il)3,3,3-trifluoro-2-metossi-2-fenilpropanoato (18b)**

Attraverso la procedura sopra descritta, da 0.05 g (0.155 mmol) di **15**, con 0.048 g di DCC, 0.0019 g di DMAP e (*S*)-MTPA (0.0046 g, 0.19 mmol), in 4.75 ml di  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  anidro, sono stati ottenuti 0.04 g (0.72 mmol) di **18b**. Solido bianco; resa: 48%,  $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +12.6650$  ( $c$  1,  $\text{CHCl}_3$ ).  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.28 (t, 3H), 1.46 (s, 9H), 2.31 (td, 1H,  $J = 13.5, 8.9$  Hz), 2.62 (dd, 1H,  $J = 13.6, 9.6$  Hz), 3.04 (d, 1H), 3.55 (s, 3H), 3.68 (d, 1H,  $J = 17.7$  Hz), 3.79 (d, 1H), 4.15-4.27 (m, 2H), 4.43 (d, 1H,  $J = 17.7$  Hz), 5.60 (bs, 1H), 5.68 (t, 1H,  $J = 8.9$  Hz), 7.39-7.41 (m, 3H), 7.57-7.59 (m, 2H).  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 200 MHz)  $\delta$  170.2, 169.3, 165.7, 156.6, 131.7, 1429.7, 128.5, 128.4, 127.6, 124.9, 121.2, 80.1, 71.3, 62.1, 58.5, 55.4, 44.1, 41.7, 29.1, 28.3, 14.0. HRMS:  $m/z$   $[\text{M} + \text{Na}]^+$  Calc. per

C<sub>24</sub>H<sub>31</sub>F<sub>3</sub>N<sub>2</sub>NaO<sub>8</sub>: 555,1931 trovata: 555,1926. Anal. Calc. per C<sub>24</sub>H<sub>31</sub>F<sub>3</sub>N<sub>2</sub>O<sub>8</sub>: C, 54.13; H, 5.87; F, 10.70; N, 5.26; O, 24.04 Trovata: C, 54.14; H, 5.82; F, 10.68; N, 5.25; O, 24.12. IR (film, cm<sup>-1</sup>) 3327 (NH), 2924 (CH), 1754 (CO).

**Sintesi di 2-((3*R*,5*R*)-5-(((*tert*-butossicarbonil)ammino)metil)-3-(*tert*-butildimetilsililossi)-2-ossopirrolidin-1-il) acetato di etile (**19**)**

Ad una soluzione di pirrolidinone **12** (0.52 g, 1.64 mmol) in DMF anidra (12 ml) sono stati aggiunti, a 0°C, imidazolo (0.48 g, 7.38 mmol) e TBDMSCl (0.72 g, 4.9 mmol). La miscela di reazione è stata agitata magneticamente a temperatura ambiente per 48 h. In seguito il solvente è stato rimosso, per evaporazione sotto pressione, e il residuo estratto con acetato di etile ed acqua. La fase organica, anidrificata con solfato di sodio, è stata filtrata ed evaporata. Attraverso una purificazione per colonna flash, usando come miscela eluente, acetato di etile/n-esano 2:3 è stato ottenuto il prodotto desiderato **19** (0.48 g). Resa: 70%; olio giallo. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz) δ 0.16 (s, 6H), 0.90 (s, 9H), 1.27 (t, 3H), 1.42 (s, 9H), 1.69 (dt, 1H, *J* = 5.5, 13.7 Hz), 2.48 (dt, 1H, *J* = 8.0, 13.7 Hz), 3.34 (dd, 2H, *J* = 13.4 Hz), 3.69-3.81 (m, 1H), 3.85 (d, 1H, *J* = 17.8 Hz), 4.17 (q, 2H), 4.24 (d, 1H, *J* = 17.8 Hz), 4.30 (dd, 1H, *J* = 5.5, 8.0 Hz), 5.28 (bs, 1H).

**Sintesi di 2-((3*R*,4*R*)-2-(((*tert*-butossicarbonil)ammino)metil)-4-(*tert*-butildimetilsililossi) pirrolidin-1-il)acetato di etile (**20**)**

Ad una soluzione di pirrolidinone **15** (0.17 g, 0.39 mmol) in THF anidro (3.9 ml), è stato aggiunto 9-BBN (1.67 ml, 0.5 M in THF, 0.87 mmol), sotto flusso di argon, e la soluzione ottenuta è stata riscaldata a 65°C per 1 h. In seguito, dopo raffreddamento fino a raggiungere la temperatura ambiente e, sotto flusso di argon è stata aggiunta etanolammina (0.05 ml, 0.87 mmol). Il solvente è stato rimosso a pressione ridotta ed al solido bianco ottenuto è stato aggiunto pentano (8.5 ml). La sospensione risultante è stata triturrata a 25 °C per 1 h e successivamente conservata a 0°C per 12 h. Trascorso tale periodo, la sospensione è stata filtrata su celite, lavata con pentano freddo e concentrata a bassa pressione fornendo il prodotto **20** (0.06 g) come solido bianco. Resa: 35%. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ 0.07 (s, 6H), 0.89 (s, 9H), 1.26 (t, 3H), 1.43 (s, 9H), 1.57 (m, 1H), 2.24 (m, 1H), 2.91 (dd, 1H, *J* = 4.8, 9.6 Hz), 3.01 (d, 1H, *J* = 9.6 Hz), 3.17 (m, 2H), 3.41 (dd, 1H, *J* = 17.3 Hz), 3.85 (m, 1H), 4.15 (q, 2H), 4.32 (m, 1H), 5.52 (bs, 1H).

### **Procedura generale per la sintesi degli esteri cloridrato di amminoacidi 23a e 23b**

Ad una sospensione dell'amminoacido (**22a**, **22b**) (1.0 mmol) in EtOH assoluto (4.2 ml), raffreddata a 0 °C, è stato aggiunto goccia a goccia, tionil cloruro (2.8 mmol) e la miscela di reazione è stata riscaldata a 50 °C per 5 h. La soluzione ottenuta è stata concentrata a bassa pressione ed il residuo è lasciato a temperatura ambiente per 12 h. Trascorso tale periodo, il solido formatosi è stato lavato con etere dietilico anidro, ed essiccato sotto vuoto. L'estere ottenuto è stato impiegato come tale nello step successivo.

#### **Estere etilico di (S)-Alanina cloridrato (23a)**

Dalla (S)-Alanina **22a** (4.0 g, 45.0 mmol), e tionil cloruro ( 3 ml, 126.0 mmol) in 80 ml di EtOH assoluto sono stati ottenuti 6.8 g di **23a** come solido bianco, con una resa del 98%. <sup>1</sup>H NMR (D<sub>2</sub>O, 400 MHz) δ 1.19 (t, 3H), 1.46 (d, 1H), 4.09 (q, 1H), 4.20 (q, 2H).

#### **Estere etilico di (S)-Fenilalanina cloridrato (23b)**

Dalla (S)-Fenilalanina **22b** (4.0 g, 24.0 mmol), e tionil cloruro (5 ml, 67.2 mmol) in 100 ml di EtOH assoluto sono stati ottenuti 5.52 g di **23b** come solido bianco, con una resa quasi quantitativa. <sup>1</sup>H NMR (D<sub>2</sub>O, 400 MHz) δ 1.26 (t, 3H), 3.25 (dd, 1H, *J* = 14.5, 7.4 Hz) 3.34 (dd, 1H, *J* = 14.5, 6.1 Hz) 4.28 (q, 2H), 4.39 (t, 1H), 7.29-7.31 (m, 2H), 7.39-7.45 (m, 3H).

### **Procedura generale per la sintesi delle immine 24a e 24b**

Ad una sospensione dell'estere cloridrato dell'amminoacido (**23a**, **23b**) (1.0 mmol), in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> anidro (1.4 ml), è stato aggiunto MgSO<sub>4</sub> (1.3 mmol), Et<sub>3</sub>N (0.14 ml) e la miscela ottenuta si lascia reagire a temperatura ambiente per 2 h. Trascorso tale tempo, è stata aggiunta benzaldeide (0.9 mmol) e la reazione procede a temperatura ambiente per ulteriori 12 h. E' stato rimosso il precipitato formatosi, filtrando su celite, ed il filtrato ottenuto è stato lavato con H<sub>2</sub>O e con una soluzione satura di NaCl. La fase organica è stata anidrificata con NaSO<sub>4</sub> e concentrata a bassa pressione per dare la cruda immina, utilizzata come tale nello step successivo.

#### **(S)-2-(benzilideneammino)propanoato di etile (24a)**

Da 6.8 g di **23a** (45 mmol) con 7.0 g di MgSO<sub>4</sub>, 6.2 ml di Et<sub>3</sub>N, e 4.0 ml di benzaldeide in 65 ml di CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> sono stati ottenuti 7.26 g dell'immina **24a**, come olio giallo con una

resa del 79%.  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.27 (t, 3H), 1.52 (d, 3H,  $J = 6.8$  Hz), 4.13 (q, 1H,  $J = 6.8$  Hz), 4.20 (q, 2H), 7.38-7.43 (m, 3H), 7.76-7.78 (m, 2H), 8.31 (s, 1H).

#### **(S)-2-(benzilideneammino)-3-fenilpropanoato di etile (24b)**

Da 5,5 g di **23b** (24 mmol) con 3,74 g di  $\text{MgSO}_4$  e 3,3 ml di  $\text{Et}_3\text{N}$ , e 2,2 ml di benzaldeide in 38 ml di  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  sono stati ottenuti 6.18 g dell'immina **24b**, come olio giallo con una resa del 92%.  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.25 (t, 3H), 3.14 (dd, 1H,  $J = 13.5, 8.7$  Hz), 3.37 (dd, 1H,  $J = 13.6, 5.3$  Hz), 4.14-4.23 (m, 3H), 7.17-7.25 (m, 5H), 7.36-7.42 (m, 3H), 7.67-7.70 (m, 2H), 7.93 (s, 1H).

#### **Procedura generale per la sintesi dei nitroni 25a e 25b**

Una soluzione di immina (**24a**, **24b**) (1.0 mmol) in MeOH (2.3 ml), è stata trattata con  $\text{MgSO}_4$  (1.1 mmol), UHP (3.0 mmol) and  $\text{MeReO}_3$  (0.02 mmol) sotto atmosfera di argon. La miscela ottenuta è stata mantenuta in agitazione per 7 h a temperatura ambiente ed, in seguito, filtrata. Il solvente è stato evaporato a pressione ridotta ed, al residuo ottenuto, è stato aggiunto  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  e è stato lavato con  $\text{H}_2\text{O}$ . La fase organica, anidrificata con  $\text{NaSO}_4$ , filtrata e concentrata a bassa pressione, ha fornito i nitroni (**25a**, **25b**), usati senza ulteriori purificazioni nello step successivo.

#### **(S)-N-benzilidene-1-etossi-1-ossopropan-2-ammina ossido (25a)**

Da 2.0 g (9.7 mmol) di **24a**, seguendo la procedura sopra riportata, ed utilizzando 1.3 g di  $\text{MgSO}_4$ , 2.7 g di UHP e 0.048 g di  $\text{MeReO}_3$ , in 23 ml di MeOH, sono stati ottenuti 2.1 g di **25a**, come solido bianco. Resa: 98%  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.34 (t, 3H,  $J = 7.1$  Hz), 1.78 (d, 3H,  $J = 7.0$  Hz), 4.29 (q, 2H,  $J = 7.1$  Hz), 4.75 (q, 1H,  $J = 7.0$  Hz), 7.41-7.44 (m, 3H), 7.87-7.89 (m, 1H), 8.23-8.27 (m, 2H).

#### **(S)-N-benzilidene-1-etossi-1-osso-3-fenilpropan-2-ammina ossido (25b)**

Da 2.0 g (9.7 mmol) di **24b**, seguendo la procedura sopra riportata, ed utilizzando 0.94 g di  $\text{MgSO}_4$ , 2.1 g di UHP e 0.035 g di  $\text{MeReO}_3$ , in 16 ml di MeOH, sono stati ottenuti 2.4 g di **25b**, come solido bianco. Resa: 98%  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.30 (t, 3H,  $J = 7.1$  Hz), 3.41 (dd, 1H,  $J = 14.2, 4.6$  Hz), 3.72 (dd, 1H,  $J = 14.2, 10.1$  Hz), 4.31 (q, 2H,  $J = 7.1$  Hz), 4.70 (dd, 1H,  $J = 10.1, 4.6$  Hz), 7.14 (s, 1H), 7.22-7.29 (m, 5H), 7.41-7.43 (m, 3H), 8.16-8.19 (m, 2H).

### **Procedura generale per la sintesi delle idrossilammine 26a e 26b**

Ad una soluzione di nitrone (1.0 mmol), in MeOH (5.0 ml) è stata aggiunta idrossilammina cloridrato (1.0 mmol) e la risultante soluzione è stata riscaldata a 65°C per 3 h. Dopo aver concentrato la miscela di reazione, è stato aggiunto NaHCO<sub>3</sub> acq. ed è stata estratta con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. La fase organica è stata anidrificata (MgSO<sub>4</sub>), filtrata, concentrata e purificata mediante cromatografia flash.

#### **(S)-2-(idrossiammino)propanoato di etile (26a)**

Da 2.19 g (9.89 mmol) di **25a**, 0.7 g di NH<sub>2</sub>OH·Cl in 50.0 ml di metanolo, dopo purificazione mediante cromatografia flash a gradiente (AcOEt/n-esano 2:3, AcOEt 100%) sono stati ottenuti 0.65 g di **26a** come olio giallo. Resa: 50%. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ 1.26-1.31 (m, 6H), 3.72 (q, 1H), 4.23 (q, 2H), 5.48 (bs, 1H). <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 200 MHz) δ 14.1, 14.6, 60.3, 61.0, 175.1.

#### **(S)-2-(idrossiammino)-3-fenilpropanoato di etile (26b)**

Da 2.52 g (8,5 mmol) di **25b**, 0.6 g di NH<sub>2</sub>OH·Cl in 43.0 ml di metanolo, dopo purificazione mediante cromatografia flash a gradiente (AcOEt/n-esano 1:4, 1:1) sono stati ottenuti 0.89 g di **26b** come olio giallo. Resa: 50%. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ 1.12 (t, 3H, *J* = 7.1 Hz), 2.79 (dd, 1H, *J* = 13.8, 8.2 Hz), 2.88 (dd, 1H, *J* = 13.8, 6.2 Hz), 3.77 (dd, 1H, *J* = 8.2, 6.2 Hz), 4.08 (q, 2H, *J* = 7.1 Hz), 7.08-7.22 (m, 5H).

### **Procedura generale per la sintesi dei cicloaddotti 27a e 27b**

Ad una soluzione di idrossilammina (**26a**, **26b**) (1.0 mmol), in toluene, sono stati aggiunti N-Boc-glicinale (1.2 mmol) ed acrilato di metile (1 mmol). La miscela di reazione è stata riscaldata a 70 °C, in fiala chiusa, e dopo 18 h è stato rimosso il solvente per evaporazione sotto vuoto.

#### **(3R,5R)-3-(((*tert*-butossicarbonil)ammino)metil)-2-((S)-1-etossi-1-ossopropan-2-il)isossazolidina-5-carbossilato di metile (27a)**

Da 0.28g (2.1 mmol) di **26a**, con 0.42 g di N-Boc-2-glicinale e 0.2 ml di acrilato di metile, dopo purificazione mediante colonna flash (AcOEt:n-esano 5:95), e successiva HPLC: n-esano:*i*-PrOH 93:7, sono stati ottenuti 0.15 g di **27a** (resa: 20%), come olio giallo.  $[\alpha]_D^{25} = -20.9440$  (c 0.5, CHCl<sub>3</sub>). <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ 1.27 (t, 3H, *J* = 7.1

Hz), 1.41 (s, 9H), 1.49 (d, 3H,  $J = 6.6$  Hz), 2.34 (ddd, 1H,  $J = 13.1, 8.9$  Hz), 2.58 (ddd, 1H,  $J = 13.1, 7.8$  Hz), 2.97-3.03 (m, 1H), 3.18-3.24 (m, 1H), 3.43-3.49 (m, 1H), 3.60 (q, 1H,  $J = 6.6$  Hz), 3.74 (s, 3H), 4.18 (q, 2H,  $J = 7.1$  Hz), 4.52 (t, 1H,  $J = 8.5$  Hz), 5.23 (bs, 1H).  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 200 MHz)  $\delta$  172.5 (CO), 172.1 (CO), 158.2 (CO), 81.5 (C-( $\text{CH}_3$ )<sub>3</sub>), 77.3 (C-5), 64.3 (C-3), 63.9 (CH- $\text{CH}_3$ ), 61.1 ( $\text{CH}_2(\text{OEt})$ ), 52.4 ( $\text{CH}_3\text{-O}$ ), 43.0 ( $\text{CH}_2\text{-NH}$ ), 35.0 (C-4), 29.7 ( $\text{CH}_2$ ), 28.4 ( $\text{CH}_3$  (*t-but*)), 16.6 ( $\text{CH}_3$ ), 14.1 ( $\text{CH}_3$  (OEt)). HRMS:  $m/z$   $[\text{M} + \text{Na}]^+$  Calc. per  $\text{C}_{16}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{NaO}_7$  383,1795 trovata 383,1789. Anal. Calc per  $\text{C}_{16}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_7$ : C, 53.32; H, 7.83; N, 7.77 Trovata: C, 53.23; H, 7.81; N, 7.72. IR (film,  $\text{cm}^{-1}$ ) 3403 (NH), 2923 (CH), 1735 (CO), 1715 (CO).

**(3*R*,5*R*)-3-(((*tert*-butossicarbonil)ammino)metil)-2-((*S*)-1-etossi-1-osso-3-fenilprop  
an -2-il)isossazolidina-5-carbossilato di metile (27b)**

Da 0.48g (2.29 mmol) di **26b**, con 0.46 g di *N*-Boc-2-glicinale e 0.2 ml di acrilato di metile, dopo purificazione mediante colonna flash (AcOEt:n-esano 1:9), e successiva HPLC n-esano:*i*-PrOH:acetone 95:3:2, sono stati ottenuti 0.4 g di **27b** (resa: 40%), come olio giallo.  $[\alpha]_D^{25} = -6.8420$  ( $c$  0.25,  $\text{CHCl}_3$ ).  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.05 (t, 3H,  $J = 7.1$  Hz), 1.43 (s, 9H), 2.42 (ddd, 1H,  $J = 13.2, 9.0$  Hz), 2.64 (ddd, 1H,  $J = 13.2, 7.8$  Hz), 2.96-3.02 (m, 1H), 3.07 (dd, 1H,  $J = 13.3, 10.3$  Hz), 3.23-3.29 (m, 1H), 3.45-3.49 (m, 1H), 3.57 (dd, 1H,  $J = 13.3, 4.3$  Hz), 3.81 (s, 3H), 3.83 (dd, 1H,  $J = 10.3, 4.3$  Hz), 3.97 (q, 2H,  $J = 7.1$  Hz), 4.61 (t, 1H,  $J = 8.5$  Hz), 5.15 (bs, 1H), 7.18-7.26 (m, 5H).  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 200 MHz)  $\delta$  172.8 (CO), 170.1 (CO), 155.5 (CO), 136.7 (C-Ar), 129.1 (CH-Ar), 128.0 (CH-Ar), 126.3 (CH-Ar), 78.6 (C-( $\text{CH}_3$ )<sub>3</sub>), 77.3 (C-5), 71.0 (C-3), 64.1 (CH- $\text{CH}_3$ ), 60.6 ( $\text{CH}_2(\text{OEt})$ ), 52.3 ( $\text{CH}_3\text{-O}$ ), 42.6 ( $\text{CH}_2\text{-NH}$ ), 37.1 (C-4), 28.1 ( $\text{CH}_3$  (*t-but*)), 13.6 ( $\text{CH}_3(\text{OEt})$ ). HRMS:  $m/z$   $[\text{M} + \text{H}]^+$  Calc. per  $\text{C}_{22}\text{H}_{33}\text{N}_2\text{O}_7$ : 437,221 trovata: 437,2282. Anal. Calc per  $\text{C}_{22}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_7$ : C, 60.54; H, 7.39; N, 6.42 Trovata: C, 60.49; H, 7.32; N, 6.38. IR (film,  $\text{cm}^{-1}$ ) 3403 (NH), 2978 (CH), 1735 (CO).

**Procedura generale per la sintesi dei nitroni 28a-n**

Ad una soluzione di idrossilammina (**3**, **26a**, **26b**) (1 mmol) e  $\text{MgSO}_4$  (3 mmol), in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  anidro, è stata addizionata l'aldeide (1 mmol). La miscela di reazione è stata agitata magneticamente a temperatura ambiente, fino alla scomparsa del prodotto di partenza, ed in seguito filtrata e concentrata a bassa pressione.

**(Z)-2-etossi -N-(2-metilpropilidene)-2-ossoetanammina ossido (28a)**

Da 0.31 g di **3**, 0.9 g di MgSO<sub>4</sub> e 0.24 ml di isobutiraldeide, in 5 ml di CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> anidro, seguendo la procedura sopra riportata, dopo 4 h, sono stati ottenuti 0.13 g di **28a**, con una resa del 30%, dopo colonna flash (AcOEt 100%). Solido amorfo; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz) δ 1.15 (d, 6H, *J* = 6.9 Hz) 1.30 (t, 3H, *J* = 7.2 Hz) 3.21 (ddd, 1H, *J* = 6.9, 7.3 Hz), 4.27 (q, 1H, *J* = 7.2 Hz), 4.50 (s, 2H), 6.58 (d, 1H, *J* = 7.3 Hz).

**(Z)-N-(2-(benzilossi)etilidene)-2-etossi-2-ossoetanammina ossido (28b)**

Da 0.4 g di **3**, 1.2 g di MgSO<sub>4</sub> e 0.47 ml di 2-(benzilossi)acetaldeide, in 9 ml di CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> anidro, seguendo la procedura sopra riportata, dopo 4 h, sono stati ottenuti 0.5 g di **28b**, con una resa del 60%, dopo colonna flash a gradiente (AcOEt:n-esano 1:1, 4:1). Solido bianco; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 Mz) δ 1.22 (t, 3H, *J* = 7.14 Hz), 4.18 (q, 2H, *J* = 7.14 Hz), 4.42-4.44 (m, 4H), 4.49 (s, 2H), 6.90 (t, 1H), 7.22-7.28 (m, 5H); <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 200 MHz) δ 165.0 (CO), 140.6 (CH=N), 137.1 (C-Ar), 128.4 (CH-Ar), 127.9 (CH-Ar), 127.8 (CH-Ar), 73.6 (CH<sub>2</sub>(Bn)), 65.8 (CH<sub>2</sub>), 65.6 (CH<sub>2</sub>(OEt)), 62.3 (CH<sub>2</sub>-C=N), 13.9 (CH<sub>3</sub>(OEt)). HRMS: *m/z* [M + H]<sup>+</sup> Calc. per C<sub>13</sub>H<sub>18</sub>NO<sub>4</sub> 252,1158 Trovata 252,1230. Anal. Calc per C<sub>13</sub>H<sub>17</sub>NO<sub>4</sub>: C, 62.14; H, 6.82; N, 5.57 Trovata: C, 62.13; H, 6.81; N, 5.55. IR (film, cm<sup>-1</sup>) 2925 (CH), 1745 (CO).

**(Z)-N-benzilidene-2-etossi -2-ossoetanammina ossido (28c)**

Da 0.4 g di **3**, 1.2 g di MgSO<sub>4</sub> e 0.34 ml di benzaldeide, in 9 ml di CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> anidro, seguendo la procedura sopra riportata, dopo 4 h, sono stati ottenuti 0.56 g di **28c**, con una resa dell'80%, dopo colonna flash (AcOEt:n-esano 1:1). Solido bianco; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 Mz) δ 1.32 (t, 3H), 4.30 (q, 2H), 4.73 (s, 2H), 7.43-7.45 (m, 4H), 8.24-8.27 (m, 2H).

**(Z)-2-etossi-N-(furan-2-ilmetilene)-2-ossoetanammina ossido (28d)**

Da 0.3 g di **3**, 0.9 g di MgSO<sub>4</sub> e 0.2 ml di 2-furfuraldeide, in 6.7 ml di CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> anidro, seguendo la procedura sopra riportata, dopo 36 h, sono stati ottenuti 0.48 g di **28d**, con una resa del 90%, dopo colonna flash (AcOEt:n-esano 1:1). Solido bianco; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 200 Mz) δ 1.31 (t, 3H), 4.29 (q, 2H), 4.67 (s, 2H), 6.58 (bs, 1H), 7.51 (s, 1H), 7.60 (s, 1H), 7.84 (d, 1H). <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 50 MHz) δ 165.4 (CO), 146.3 (C-Ar), 144.3 (CH-N), 127.79, 116.49, 112.50, (CH-Ar), 66.4 (CH<sub>2</sub>(OEt)), 62.4 (CH<sub>2</sub>), 14.1 (CH<sub>3</sub>).

**(S,Z)-1-etossi-N-(2-metilpropilidene)-2-ossopropan-2-ammina ossido (28e)**

Da 0.16 g di **26a**, 0.45 g di MgSO<sub>4</sub> e 0.1 ml di isobutiraldeide, in 3 ml di CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> anidro, seguendo la procedura sopra riportata, dopo 4 h, sono stati ottenuti 0.19 g di **28e**, con una resa dell'85%, dopo colonna flash (AcOEt:n-esano 4:1). Solido bianco;  $[\alpha]_D^{25} = -27.2250$  (*c* 0.5, CHCl<sub>3</sub>) <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 Mz)  $\delta$  1.14 (dd, 6H, *J* = 9.9, 6.9 Hz), 1.28 (t, 3H, *J* = 7.2 Hz), 1.67 (d, 3H, *J* = 7.0 Hz), 3.21 (qd, 1H, *J* = 13.9, 6.9 Hz), 4.24 (q, 2H, *J* = 7.2 Hz), 4.52 (q, 1H, *J* = 7.0 Hz), 6.61 (d, 1H, *J* = 7.3 Hz); <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 126 MHz)  $\delta$  168.0 (CO), 145.3 (CH-C=N), 71.6 (CH-CH<sub>3</sub>), 62.1 (CH<sub>2</sub>(OEt)), 25.9 (CH-(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 18.8 (CH<sub>3</sub>-CHCH<sub>3</sub>), 18.5 (CH<sub>3</sub>-CHCH<sub>3</sub>), 15.2 (CH<sub>3</sub>), 13.9 (CH<sub>3</sub>(OEt)). HRMS: *m/z* [M + H]<sup>+</sup> Calc. per C<sub>9</sub>H<sub>18</sub>NO<sub>3</sub> 188,1208 Trovata 188,1281. Anal. Calc per C<sub>9</sub>H<sub>17</sub>NO<sub>3</sub>: C, 57.73; H, 9.15; N, 7.48 Trovata: C, 57.71; H, 9.14; N, 7.47. IR (film, cm<sup>-1</sup>) 2966 (CH), 1744 (CO).

**(S,Z)-N-(-(benzilossi)etilidene)-1-etossi-1-ossopropan-2-ammina ossido (28f)**

Da 0.3 g di **26a**, 0.812 g di MgSO<sub>4</sub> e 0.31 ml di 2-(benzilossi)acetaldeide, in 10 ml di CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> anidro, seguendo la procedura sopra riportata, dopo 4 h, sono stati ottenuti 0.34 g di **28f**, con una resa del 58%, dopo colonna flash (AcOEt:n-esano 1:1). Solido bianco;  $[\alpha]_D^{25} = -8.1269$  (*c* 0.65, CHCl<sub>3</sub>) <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 Mz)  $\delta$  1.21 (t, 3H, *J* = 7.14 Hz), 1.58(d, 3H, *J* = 7.06 Hz), 4.17 (q, 2H, *J* = 7.14 Hz), 4.44 (dd, 2H), 4.49-4.51 (m, 3H), 6.94 (t, 1H), 7.22-7.30 (m, 5H); <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 200 MHz)  $\delta$  167.5 (CO), 137.9 (CH=N), 137.1 (C-Ar), 128.5 (CH-Ar), 128.0(CH-Ar), 127.9 (CH-Ar), 73.7 (CH<sub>2</sub>(Bn)), 71.4 (CH), 65.8 (CH<sub>2</sub>(OEt)), 62.3 (CH<sub>2</sub>-C=N), 15.3 (CH<sub>3</sub>), 13.9 (CH<sub>3</sub>(OEt)). HRMS: *m/z* [M + H]<sup>+</sup> Calc. per C<sub>14</sub>H<sub>20</sub>NO<sub>4</sub> 266,1314 Trovata 266,1387. Anal. Calc per C<sub>14</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>4</sub>: C, 63.38; H, 7.22; N, 5.28 Trovata: C, 64.08; H, 7.26; N, 5.29. IR(film,cm<sup>-1</sup>) 2923 (CH), 1735 (CO).

**(S,Z)-N-benzilidene-1-etossi-1-ossopropan-2-ammina ossido (28g)**

Da 0.15 g di **26a**, 0.42 g di MgSO<sub>4</sub> e 0.11 ml di benzaldeide, in 3 ml di CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> anidro, seguendo la procedura sopra riportata, dopo 12 h, sono stati ottenuti 0.22 g di **28g**, con una resa dell'89%, dopo colonna flash (AcOEt:n-esano 3:7). Solido bianco <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 Mz)  $\delta$  1.30 (t, 3H), 1.78 (d, 3H, *J* = 7.0 Hz) 4.23-4.30 (m, 2H), 4.74 (q, 1H, *J* = 7.0 Hz), 7.43-7.44 (m, 3H), 7.47 (s, 1H), 8.25-8.27 (m, 2H).



**(S,Z)- 1-etossi -N-(furan-2-ilmetilene)- 1-ossopropan-2-ammina ossido (28h)**

Da 0.15 g di **26a**, 0.42 g di MgSO<sub>4</sub> e 0.09 ml di 2-furfuraldeide , in 3 ml di CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> anidro, seguendo la procedura sopra riportata, dopo 36 h, sono stati ottenuti 0.16 g di **28h**, con una resa del 69%, dopo colonna flash a gradiente (AcOEt:n-esano 3:7, 1:1). Solido bianco; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 Mz) δ 1.28 (t, 3H, *J* = 7.2 Hz), 1.77 (d, 3H, *J* = 7.0 Hz), 4.26 (q, 2H, ), 4.72(q, 1H, *J* = 7.0 Hz), 6.57 (s, 1H, ), 7.51 (s, 1H), 7.65 (s, 1H), 7.81 (d, 1H). <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 126 MHz) δ 167.8 (C-O), 146.5 (C-N), 144.1 (C-Ar), 144.0, 125.7, 116.2, 112.4 (CH-Ar), 71.7(CH), 62.3(CH<sub>2</sub>), 15.5 (CH<sub>3</sub>), 13.9 (CH<sub>3</sub>).

**(S,Z)-1- etossi -N-(2-metilpropilidene)-1-osso-3-fenilpropan-2-ammina ossido (28i)**

Da 0.22 g di **26b**, 0.39 g di MgSO<sub>4</sub> e 0.095 ml di isobutiraldeide, in 3 ml di CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> anidro, seguendo la procedura sopra riportata, dopo 4 h, sono stati ottenuti 0.24 g di **28i**, con una resa dell'87%; olio giallo;  $[\alpha]_D^{25} = -65.7550$  (c 0.5, CHCl<sub>3</sub>). <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 Mz) δ 0.86 (d, 3H, *J* = 6.9 Hz), 1.03 (d, 3H, *J* = 6.9 Hz), 1.29 (t, 3H, *J* = 7.1 Hz), 3.08 (qd, 1H, *J* = 13.9, 6.9 Hz), 3.25 (dd, 1H, *J* = 14.2, 4.2 Hz), 3.59 (dd, 1H, *J* = 14.2, 10.8 Hz), 4.26 (q, 2H, *J* = 7.1 Hz), 4.40 (dd, 1H, *J* = 10.8, 4.2 Hz), 6.20 (d, 1H, *J* = 7.3 Hz), 7.21-7.30 (m, 5H); <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 126 MHz) δ 166.8 (CO), 146.9 (CH-C=N), 136.3 (C-Ar), 129.1 (CH-Ar), 128.6 (CH-Ar), 127.0 (CH-Ar), 78.0 (CH-N), 62.2 (CH<sub>2</sub>(OEt)), 34.6 (CH<sub>2</sub>(Ph)), 25.7 (CH-(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 18.7 (CH<sub>3</sub>-CHCH<sub>3</sub>), 18.5 (CH<sub>3</sub>-CHCH<sub>3</sub>), 13.9 (CH<sub>3</sub>(OEt)). HRMS: m/z [M + H]<sup>+</sup> Calc. per C<sub>15</sub>H<sub>22</sub>NO<sub>3</sub> 264,1521 trovata 264.1594. Anal. Calc per C<sub>15</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>3</sub>: C, 68.42; H, 8.04; N, 5.32 Trovata: C, 68.39; H, 8.00; N, 5.31 .IR (film,cm<sup>-1</sup>) 2964 (CH), 1744 (CO).

**(S,Z)-N-(2(benzilossi)etilidene)-1-etossi-1-osso-3-fenilpropan-2-ammina ossido (28l)**

Da 0.8 g di **26b**, 0.712 g di MgSO<sub>4</sub> e 0.28 ml di 2-(benzilossi)acetaldeide, in 5 ml di CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> anidro, seguendo la procedura sopra riportata, dopo 4 h, sono stati ottenuti 0.66 g di **28l**, con una resa del 99%, dopo colonna flash (AcOEt:n-esano 3:7). Solido bianco;  $[\alpha]_D^{25} = -35.4700$  (c 1, CHCl<sub>3</sub>). <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 Mz) δ 1.21 (t, 3H), 3.22 (dd, 1H, *J* = 14.2, 4.8 Hz), 3.48 (dd, 1H, *J* = 14.2, 10.6 Hz), 4.14-4.24 (m, 2H), 4.27-4.38 (m, 4H), 4.44 (ddd, 1H, *J* = 10.6, 4.8 Hz), 6.59 (t, 1H), 7.13-7.28 (m, 10H); <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 126 MHz) δ 166.3 (CO), 139.9 (CH=N), 137.1 (C-Ar), 135.9 (C-Ar), 128.9 (CH-Ar), 128.7 (CH-Ar), 128.4 (CH-Ar), 127.9 (CH-Ar), 127.2 (CH-Ar), 77.7 (CH), 73.4 (CH<sub>2</sub>(Bn)), 65.5 (CH<sub>2</sub>(OEt)), 62.4 (CH<sub>2</sub>-C=N), 34.7 (CH<sub>2</sub>(Ph)), 13.9 (CH<sub>3</sub>(OEt)). HRMS: m/z [M + H]<sup>+</sup>

Calc. per  $C_{20}H_{24}NO_4$  342,1627 trovata 342,1700. Anal. Calc per  $C_{20}H_{23}NO_4$ : C, 68.42 C, 70.36; H, 6.79; N, 4.10 Trovata: C, 70.38; H, 6.85; N, 4.16 . IR (film,  $cm^{-1}$ ) 2923 (CH), 1736 (CO).

**(S,Z)-N-benzilidene-1-etossi-1-osso-3-fenilpropan-2-ammina ossido (28m)**

Da 0.08 g di **26b**, 0.14 g di  $MgSO_4$  e 0.038 ml di benzaldeide, in 3 ml di  $CH_2Cl_2$  anidro, seguendo la procedura sopra riportata, dopo 4 h, sono stati ottenuti 0.11 g di **28m**, con una resa del 99%, Solido bianco;  $[\alpha]_D^{25} = -35.4700$  ( $c$  1,  $CHCl_3$ ).  $^1H$  NMR ( $CDCl_3$ , 400 Mz)  $\delta$  1.30 (t, 3H,  $J = 7.1$  Hz), 3.41 (dd, 1H,  $J = 14.2, 4.6$  Hz), 3.72 (dd, 1H,  $J = 14.2, 10.1$  Hz), 4.31 (q, 2H,  $J = 7.1$  Hz), 4.70 (dd, 1H,  $J = 10.1, 4.6$  Hz), 7.14 (s, 1H), 7.22-7.29 (m, 5H), 7.40-7.44 (m, 3H), 8.16-8.19 (m, 2H).

**(S,Z)-1-etossi-N-(furan-2-ilmetilene)-1-osso-3-fenilpropan-2-amminaossido (28n)**

Da 0.18 g di **26b**, 0.32 g di  $MgSO_4$  e 0.07 ml di 2-furfuraldeide, in 2.3 ml di  $CH_2Cl_2$  anidro, seguendo la procedura sopra riportata, dopo 36 h, sono stati ottenuti 0.2 g di **28n**, con una resa dell'83%, dopo colonna flash (AcOEt:n-esano 1:4). Solido bianco.  $^1H$  NMR ( $CDCl_3$ , 500 Mz)  $\delta$  1.27 (t, 3H), 3.37 (dd, 1H,  $J = 14.2, 4.9$  Hz), 3.64 (dd, 14.2, 9.9 Hz), 4.23-4.29 (m, 2H, ), 4.65 (dd, 1H,  $J = 9.9, 4.9$  Hz), 6.54-6.55 (m, 1H, ), 7.19-7.26 (m, 5H), 7.34 (s, 1H), 7.44 (s, 1H), 7.82 (d, 1H) );  $^{13}C$  NMR ( $CDCl_3$ , 126 MHz)  $\delta$  166.7 (C-O), 146.2 (C-(Fu)), 144.0 (C=N), 136.1 (C-(Ph)) 128.9, 128.7, 127.2, 126.9 (CH-(Ph)) 116.2, 112.3 (CH-(Fu)), 78.71 (CH-Bn), 62.3 ( $CH_2(OEt)$ ), 35.1 ( $CH_2(Bn)$ ) 13.9 ( $CH_3$ ).

**Procedura generale per la sintesi dei cicloaddotti 29a-n**

*Metodo A:* Una soluzione di idrossilammina **3**, **26a**, **26b** (1 mmol), aldeide (1.5 mmol) e dipolarofilo (1 mmol) in toluene, è stata riscaldata a 80 °C in fiala chiusa . La miscela di reazione è stata evaporata a pressione ridotta dopo aver appurato mediante cromatografia su strato sottile, la scomparsa del prodotto di partenza.

*Metodo B:* Una soluzione di nitrone **28a-n** (1 mmol) e dipolarofilo (1 mmol) in toluene, è stata riscaldata a 80 °C, in fiala chiusa. Dopo la scomparsa del prodotto di partenza, rivelata mediante cromatografia su strato sottile (TLC), la miscela di reazione è stata concentrata a pressione ridotta.

***N*-(((3*R*,5*R*)-3-isopropil-2-etossicarbonilmetil-5-isossazolidinil) carbonil)-(2*R*)-bornano-10,2-sultame (29a)**

Da 0.28 g di **3**, 0.619 g di *N*-acriloil-(2*R*)-bornano-10,2-sultame e 0.32 ml di isobutiraldeide, in toluene, seguendo il *metodo A*, dopo 18 h, sono stati ottenuti 0.2 g di **29a**, con una resa del 20%, dopo colonna flash (AcOEt:n-esano 1:4) (*d.r.* 1:0.3). Attraverso una ulteriore purificazione per HPLC (n-esano/*i*-PrOH 95:5) è stato ottenuto il composto maggioritario puro. Olio incolore;  $[\alpha]_D^{25} = -25.0243$  (*c* 2, CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 Mz) δ 0.93 (s, 6H), 0.95 (s, 3H), 1.12 (s, 3H), 1.30 (t, 3H), 1.42-1.48 (m, 1H), 1.70-1.78 (m, 1H), 1.79-1.95 (m, 6H), 2.05-2.18 (m, 1H), 2.52 (t, 1H), 2.97 (q, 1H), 3.11 (d, 2H), 3.57 (d, 1H), 3.87-3.98 (m, 2H), 4.18-4.21 (m, 2H), 5.03 (t, 1H); <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 126 MHz) δ 171.1 (CO), 168.9 (CO), 76.5 (C-5), 71.1 (C-3), 64.9 (CH-NO), 62.4 (CH-NS), 60.3 (CH<sub>2</sub>(OEt)), 52.5 (CH<sub>2</sub>-CO), 49.9 (CH<sub>2</sub>-S), 44.2 (C-4), 37.9 (CH<sub>2</sub>), 35.6 (CH<sub>2</sub>), 31.4 (CH<sub>2</sub>), 29.9 (CH-*i*-prp), 26.3 (CH<sub>2</sub>), 20.4 (CH<sub>3</sub>-CCH<sub>3</sub>), 20.0 (CH<sub>3</sub>-CCH<sub>3</sub>), 19.9, 19.4(CH<sub>3</sub>), 13.7 CH<sub>3</sub>(OEt)). HRMS: *m/z* [M + H]<sup>+</sup> Calc. per C<sub>21</sub>H<sub>35</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>S 443,2138 trovata 443,2210. Anal. Calc per C<sub>21</sub>H<sub>34</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>S: C, 56.99; H, 7.74; N, 6.33 Trovata: C, 56.99; H, 7.74; N, 6.33. IR (film, cm<sup>-1</sup>) 3280 (NCO), 2959 (CH), 1748 (CO), 1698 (CO).

***N*-(((3*R*,5*R*)-3-benzilossimetil-2-etossicarbonilmetil-5-isossazolidinil) carbonil)-(2*R*)-bornano-10,2-sultame (29b)**

Da 0.25 g di **28b**, 0.27 g di *N*-acriloil-(2*R*)-bornano-10,2-sultame in toluene, seguendo il *metodo B*, dopo 18 h, sono stati ottenuti 0.41 g di **29b**, con una resa del 79%, dopo colonna flash (AcOEt:n-esano 3:7) (*d.r.* 1:0.2:0.2). Attraverso una ulteriore purificazione per HPLC (n-esano/*i*-PrOH 95:5) è stato ottenuto il composto maggioritario puro. Olio incolore;  $[\alpha]_D^{25} = -52.4761$  (*c* 1.9, CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 Mz) δ 0.96 (s, 3H), 1.13 (s, 3H), 1.26 (t, 3H, *J* = 7.1 Hz), 1.34-1.43 (m, 2H), 1.87-1.92 (m, 3H), 1.98-2.09 (m, 1H), 2.13-2.19 (m, 1H), 2.54-2.58 (m, 2H), 3.39-3.51 (m, 3H), 3.53-3.63 (m, 2H), 3.85-3.97 (m, 3H), 4.20 (q, 2H, *J* = 7.1 Hz), 4.52 (q, 2H), 5.10 (t, 1H), 7.26-7.36 (m, 5H); <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 126 MHz) δ 171.0 (CO), 169.3 (CO), 137.8 (C-Ar), 128.4 (CH-Ar), 127.7 (CH-Ar), 127.6 (CH-Ar), 76.2 (C-5), 73.3 (CH<sub>2</sub>(Bn)), 70.8 (CH<sub>2</sub>-OBn), 65.4 (C-3), 64.7 (CH-NS), 60.7 (CH<sub>2</sub>(OEt)), 59.9 (CH<sub>2</sub>-CO), 52.9 (CH<sub>2</sub>-S), 48.9 (C), 47.8 (C), 44.6 (C-4), 38.3 (CH<sub>2</sub>), 36.4(CH<sub>2</sub>), 32.9 (CH<sub>2</sub>), 26.4 (CH<sub>2</sub>), 20.8 (CH<sub>3</sub>-CCH<sub>3</sub>), 19.8 (CH<sub>3</sub>-CCH<sub>3</sub>), 14.2 (CH<sub>3</sub>(OEt)). HRMS: *m/z* [M + H]<sup>+</sup> Calc. per C<sub>26</sub>H<sub>37</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>S 521,2243 trovata 521,2305. Anal. Calc per

C<sub>26</sub>H<sub>36</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>S: C, 59.98; H, 6.97; N, 5.38 Trovata: C, 59.99; H, 6.99; N, 5.39 . IR (film, cm<sup>-1</sup>) 2959 (CH), 1750 (CO), 1698 (CO).

***N*-(((3*R*,5*R*)-3-fenil-2-etossicarbonilmetil-5-isossazolidinil)carbonil)-(2*R*)-bornano-10,2-sultame (29c)**

Da 0.22 g di **28c**, 0.30 g di *N*-acriloil-(2*R*)-bornan-10,2-sultame in toluene, seguendo il *metodo B*, dopo 18 h, sono stati ottenuti 0.22 g di **29c**, con una resa del 41%, dopo colonna flash (AcOEt:n-esano 1.5:8.5) (*d.r.* 1:0.2). Attraverso una ulteriore purificazione per HPLC (n-esano/*i*-PrOH 98:2) è stato ottenuto il composto maggioritario puro. Olio incolore;  $[\alpha]_D^{25} = -35.4213$  (*c* 0.75, CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 Mz) δ 0.97 (s, 3H), 1.15 (s, 3H), 1.22 (t, 3H, *J* = 7.1 Hz), 1.36-1.44 (m, 2H), 1.89-1.93 (m, 3H), 2.10 (dd, 1H, *J* = 13.8, 7.9 Hz), 2.18-2.24 (m, 1H), 2.80-2.84 (m, 2H), 3.45 (q, 2H, *J* = 13.8 Hz), 3.56 (d, 1H, *J* = 16.5 Hz), 3.78 (d, 1H, *J* = 16.5 Hz), 3.92 (dd, 1H, *J* = 7.9, 5.0 Hz), 4.08-4.18 (m, 3H), 5.31 (t, 1H), 7.28-7.43 (m, 5H); <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 126 MHz) δ 170.8 (CO), 169.1 (CO), 136.9 (C-Ar), 128.7 (CH-Ar), 128.2 (CH-Ar), 127.8 (CH-Ar), 75.9 (C-5), 69.2 (CH-Ph), 65.5 (C-3), 60.8 (CH<sub>2</sub>(OEt), 57.9 (CH<sub>2</sub>-CO), 52.9 (CH<sub>2</sub>-S), 49.0 (C), 47.8 (C), 44.6 (C-4), 38.4 (CH<sub>2</sub>), 32.9 (CH<sub>2</sub>), 26.4 (CH<sub>2</sub>), 20.8 (CH<sub>3</sub>-CCH<sub>3</sub>), 19.9 (CH<sub>3</sub>-CCH<sub>3</sub>), 14.1 (CH<sub>3</sub>(OEt)). HRMS: *m/z* [M + H]<sup>+</sup> Calc. per C<sub>24</sub>H<sub>33</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>S 477,1981 trovata 477,2084. Anal. Calc per C<sub>24</sub>H<sub>32</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>S: C, 60.48; H, 6.77; N, 5.88 Trovata: C, 60.48; H, 6.77; N, 5.88. IR (film, cm<sup>-1</sup>) 3600 (NH), 2958(CH), 1734 (CO), 1698 (CO).

***N*-(((3*R*,5*R*)-3-furfuril-2-etossicarbonilmetil-5-isossazolidinil)carbonil)-(2*R*)-bornano-10,2-sultame (29d)**

Da 0.15 g di **28d**, 0.20 g di *N*-acriloil-(2*R*)-bornan-10,2-sultame in toluene, seguendo il *metodo B*, dopo 18 h, sono stati ottenuti 0.28 g di **29d**, con una resa dell'80%, dopo colonna flash (AcOEt:n-esano 1.5:8.5) (*d.r.* 1:0.2). Attraverso una ulteriore purificazione per HPLC (n-esano/*i*-PrOH 98:2) è stato ottenuto il composto maggioritario puro). Olio incolore;  $[\alpha]_D^{25} = -31.2243$  (*c* 1, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>); <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 Mz) δ 0.97 (s, 3H), 1.15 (s, 3H), 1.25 (t, 3H, *J* = 7.1 Hz), 1.33-1.42 (m, 2H), 1.85-1.97 (m, 3H), 2.04-2.11 (m, 1H), 2.15-2.21 (m, 1H), 2.73-2.83 (m, 1H), 2.97-3.05 (m, 1H), 3.47 (q, 2H, *J* = 13.7 Hz), 3.68-3.77 (m, 1H), 3.91 (dd, 1H, *J* = 7.7, 5.0 Hz), 4.17 (q, 1H, *J* = 7.1 Hz), 4.32-4.36 (m, 1H), 5.29 (dd, 1H, *J* = 8.7, 4.8 Hz), 6.31-6.34 (m, 2H), 7.38-7.39 (m, 1H). <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 101 MHz) δ 170.7 (CO), 168.7 (CO), 149.9 (C-Fu), 142.8, 110.4, 108.8 (CH-Fu), 76.0 (C-

5), 65.5 (C-3), 60.9 (CH<sub>2</sub>(OEt), 53.04 (CH<sub>2</sub>-N), 48.9 (C-(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 47.88 (C), 44.7 (CH), 38.3 (CH<sub>2</sub>), 32.9 (CH<sub>2</sub>), 29.7 (CH<sub>2</sub>), 26.5 (CH<sub>2</sub>), 20.8 (CH<sub>3</sub>-CCH<sub>3</sub>), 19.9 (CH<sub>3</sub>-CCH<sub>3</sub>), 14.2 (CH<sub>3</sub>(OEt)). HRMS: m/z [M + H]<sup>+</sup> Calc. per C<sub>22</sub>H<sub>31</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>S 467,1774 trovata 467.1860; Anal. Calc per C<sub>22</sub>H<sub>30</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>S: C, 56.64; H, 6.48; N, 6.00 Trovata: C, 56.64; H, 6.48; N, 6.00. IR (film, cm<sup>-1</sup>) 2960 (CH), 1749 (CO), 1696 (CO).

**(3R,5R)-2-((S)-1-etossi-1-ossopropan-2-il)-3-isopropilisossazolidin-5-carbossilato di metile (29e)**

Da 0.19 g di **28e**, 0.09 ml di acrilato di metile, seguendo il *metodo B*, dopo 12 h, sono stati ottenuti 0.14 g di **29e**, con una resa del 52%, dopo colonna flash a gradiente (AcOEt:n-esano 1:9, 2:3) (*d.r.* 1:0.7:0.6:0.5), dalla quale è stato isolato il composto maggioritario puro. Olio incolore;  $[\alpha]_D^{25} = -20.6430$  (*c* 0.5, CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 Mz) δ 0.92 (d, 3H, *J* = 6.8 Hz), 0.98 (d, 3H, *J* = 6.7 Hz) 1.27 (t, 3H, *J* = 7.1 Hz), 1.48 (d, 3H, *J* = 6.6 Hz), 1.70 (qd, 1H, *J* = 13.7, 6.8 Hz), 2.47 (ddd, 2H, *J* = 8.5, 4.7 Hz), 3.05 (ddd, 1H, *J* = 7.2, 6.8 Hz), 3.61 (q, 1H, *J* = 6.6 Hz), 3.65 (s, 3H), 4.17 (q, 2H, *J* = 7.1 Hz), 4.48 (t, 1H, *J* = 8.5 Hz); <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 126 MHz) δ 172.9 (CO), 172.3 (CO), 77.2 (C-5), 70.1 (C-3), 64.5 (CH-CH<sub>3</sub>), 60.8 (CH<sub>2</sub>(OEt)), 52.2 (CH<sub>3</sub>-O), 33.9 (C-4), 30.8 (CH-(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 20.1 (CH<sub>3</sub>-CHCH<sub>3</sub>), 18.7 (CH<sub>3</sub>-CHCH<sub>3</sub>), 16.0 (CH<sub>3</sub>), 14.1(CH<sub>3</sub>(OEt)). HRMS: m/z [M + H]<sup>+</sup> Calc. per C<sub>13</sub>H<sub>24</sub>NO<sub>5</sub> 274,1576 trovata 274,1649. Anal. Calc per C<sub>13</sub>H<sub>23</sub>NO<sub>5</sub>: C, 57.13; H, 8.48; N, 5.12 Trovata: C, 57.11; H, 8.45; N, 5.09. IR (film, cm<sup>-1</sup>) 2958 (CH), 1744 (CO).

**(3R,5R)-3-((benzilossi)metil)-2-((S)-1-etossi-1-ossopropan-2-il)isossazolidin-5-carbossilato di metile (29f)**

Da 0.29 g di **28f**, 0.1 ml di acrilato di metile, seguendo il *metodo B*, dopo 9 h, sono stati ottenuti 0.25 g di **29f**, con una resa del 65%, dopo colonna flash (AcOEt:n-esano 1:4) (*d.r.* 1:1:0.5), dalla quale è stato isolato uno dei composti maggioritari. Olio incolore;  $[\alpha]_D^{25} = -22.9000$  (*c* 0.5, CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 Mz) δ 1.25 (t, 3H), 1.48 (d, 3H, *J* = 6.7 Hz), 2.51 (ddd, 1H, *J* = 12.4, 7.5 Hz), 2.62 (ddd, 1H, *J* = 12.4, 8.6 Hz), 3.39 (dd, 1H, *J* = 9.0, 7.2 Hz), 3.58-3.66 (m, 2H), 3.73-3.76 (m, 4H), 4.12-4.24 (m, 2H), 4.49-4.56 (m, 3H), 7.28-7.37 (m, 5H); <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz) δ 172.1 (CO), 171.5 (CO), 137.7 (C-Ar), 130.7, 128.7, 128.3, 127.6 (CH-Ar), 75.9 (C-5), 73.3 (CH<sub>2</sub>(Bn), 71.2 (CH<sub>2</sub>-OBn), 63.7 (C-3), 61.0 (CH-CH<sub>3</sub>), 60.6 (CH<sub>2</sub> (OEt)), 52.2 (CH<sub>3</sub>(OMe), 35.6 (C-4), 16.4 (CH<sub>3</sub>), 14.0 (CH<sub>3</sub>(OEt)).

HRMS:  $m/z$   $[M + H]^+$  Calc. per  $C_{18}H_{26}NO_6$  352,1682 trovata 352,1755. Anal. Calc per  $C_{18}H_{25}NO_6$ : C, 61.52; H, 7.17; N, 3.99 Trovata: C, 61.49; H, 7.15; N, 3.97. IR (film,  $cm^{-1}$ ) 2927 (CH), 1736 (CO).

**(3R,5R)-2-((S)-1-etossi-1-ossopropan-2-il)-3- isossazolidin-5-carbossilato di metile (29g)**

Da 0.2 g di **28g**, 0.08 ml di acrilato di metile, seguendo il *metodo B*, dopo 12 h, sono stati ottenuti 0.23 g di **29g**, con una resa del 83%. (*d.r.* 1:0.4:0.3). Attraverso una purificazione per HPLC (n-esano/*i*-PrOH 99:1) è stato ottenuto il composto maggioritario puro. Olio incolore;  $[\alpha]_D^{25} = +10.8065$  (*c* 1  $CH_2Cl_2$ );  $^1H$  NMR ( $CDCl_3$ , 500 Mz)  $\delta$  1.09 (t, 3H), 1.34 (d, 3H,  $J = 6.7$  Hz), 2.63 (ddd, 1H,  $J = 12.7, 8.9, 7.0$  Hz), 2.74 (ddd, 1H,  $J = 12.7, 7.2, 5.6$  Hz), 3.63 (q, 1H,  $J = 6.7$  Hz), 3.71 (s, 3H), 3.82-3.91 (m, 2H), 4.25 (t, 1H,  $J = 7.1$  Hz), 4.61 (dd, 1H,  $J = 8.9, 5.6$  Hz), 7.21-7.27 (m, 3H), 7.32-7.34 (m, 2H).  $^{13}C$  NMR ( $CDCl_3$ , 125 MHz)  $\delta$  172.1 (CO), 171.7 (CO), 138.9 (C-Ar), 128.6, 127.9, 127.6 (CH-Ar), 75.2 (C-5), 66.4 (C-3), 63.1 (CH-CH<sub>3</sub>), 60.8 (CH<sub>2</sub> (OEt)), 52.4 (CH<sub>3</sub>(OMe)), 42.5 (C-4), 14.4 (CH<sub>3</sub>(OEt)), 13.9 (CH<sub>3</sub>). HRMS:  $m/z$   $[M + Na]^+$  Calc. per  $C_{16}H_{21}NNaO_5$  330,1430 trovata 330,1310. Anal. Calc per  $C_{16}H_{21}NO_6$ : C, 62.53; H, 6.89; N, 4.56 Trovata: C, 62.55; H, 6.90; N, 4.58. IR (film,  $cm^{-1}$ ) 2984 (CH), 1738 (CO).

**(3R,5R)-2-((S)-1-etossi-1-ossopropan-2-il)-3-(furan-2-il) isossazolidin-5-carbossilato di metile (29h)**

Da 0.14 g di **28h**, 0.12 ml di acrilato di metile (2 eq), seguendo il *metodo B*, dopo 24 h, sono stati ottenuti 0.17 g di **29h**, con una resa del 77%. (*d.r.* 1:0.7:0.3). Attraverso una purificazione per HPLC (n-esano/*i*-PrOH 99:1) è stato ottenuto il composto maggioritario puro. Olio incolore;  $[\alpha]_D^{25} = -1.1450$  (*c* 0.5,  $CH_2Cl_2$ );  $^1H$  NMR ( $CDCl_3$ , 400 Mz)  $\delta$  1.24 (t, 3H), 1.44 (d, 3H,  $J = 6.7$  Hz), 2.74-2.80 (m, 2H), 2.89 (ddd, 1H,  $J = 13.5, 8.8, 4.8$  Hz), 3.57-3.60 (m, 1H), 3.78 (s, 3H), 4.11 (q, 2H), 4.50 (dd, 1H,  $J = 7.4, 4.9$  Hz), 4.74 (dd, 1H,  $J = 8.6, 6.8$  Hz), 6.28 (d, 1H), 6.32-6.33 (m, 1H), 7.38-7.39 (m, 1H).  $^{13}C$  NMR ( $CDCl_3$ , 125 MHz)  $\delta$  71.9 (CO), 171.8 (CO), 151.2 (C-Fu), 142.5, 110.3, 108.5 (CH-Fu), 75.1 (C-5), 74.8 (C-3), 60.9 (CH<sub>2</sub> (OEt)), 52.4 (CH), 51.9 (CH<sub>3</sub>(OMe)), 38.7 (C-4), 15.3 (CH<sub>3</sub>), 14.1 (CH<sub>3</sub>(OEt)). HRMS:  $m/z$   $[M + Na]^+$  Calc. per  $C_{14}H_{19}NNaO_6$  320,1212 trovata 320,1119. Anal. Calc per  $C_{14}H_{19}NO_6$ : C, 56.56; H, 6.44; N, 4.71 Trovata: C, 56.56; H, 6.44; N, 4.71. IR (film,  $cm^{-1}$ ) 2984 (CH), 1738 (CO).

**(3*R*,5*R*)-2-((*S*)-1-etossi-1-osso-3-fenilpropan-2-il)-3-isopropilisossazolidin-5-carbossilato di metile (29i)**

Da 0.23 g di **28i**, 0.079 ml di acrilato di metile, seguendo il *metodo B*, dopo 12 h, sono stati ottenuti 0.18 g di **29i**, con una resa del 60%, dopo colonna flash a gradiente (AcOEt:n-esano 1.5:8.5, 1:4) (*d.r.* 1:0.4:0.4:0.3), dalla quale è stato isolato il composto maggioritario puro. Olio incolore;  $[\alpha]_D^{25} = -14.4900$  (*c* 0.75, CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 Mz)  $\delta$  0.92 (d, 3H, *J* = 6.7 Hz), 0.98 (d, 3H, *J* = 6.7 Hz), 1.06 (t, 3H, *J* = 7.1 Hz), 1.68 (dt, 1H, *J* = 13.6, 6.8 Hz), 2.49-2.56 (m, 2H), 2.98-3.02 (m, 1H), 3.08 (dd, 1H, *J* = 13.1, 10.6 Hz), 3.58 (dd, 1H, *J* = 13.1, 4.3 Hz), 3.80 (s, 3H), 3.85 (q, 1H, *J* = 10.6, 4.3 Hz), 3.98 (q, 1H, *J* = 7.1 Hz), 4.56 (t, 1H, *J* = 8.4 Hz), 7.16-7.26 (m, 5H); <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz)  $\delta$  172.9 (CO), 170.4 (CO), 137.2 (C-Ar), 129.2 (CH-Ar), 128.1 (CH-Ar), 126.2 (CH-Ar), 77.4 (C-5), 71.9 (C-3), 70.4 (CH-Bn), 60.5 (CH<sub>2</sub>(OEt)), 52.2 (CH<sub>3</sub>-O), 36.9 (C-4), 34.0 (CH<sub>2</sub> (Bn)), 30.5 (CH-(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 19.8 (CH<sub>3</sub>-CHCH<sub>3</sub>), 18.9 (CH<sub>3</sub>-CHCH<sub>3</sub>), 13.7(CH<sub>3</sub>(OEt)). HRMS: *m/z* [M + H]<sup>+</sup> Calc. per C<sub>19</sub>H<sub>28</sub>NO<sub>5</sub> 350,1889 trovata 350,1962. Anal. Calc per C<sub>19</sub>H<sub>27</sub>NO<sub>5</sub>: C, 65.31; H, 7.79; N, 4.01 Trovata: C, 65.37; H, 7.87; N, 4.21. IR (film, cm<sup>-1</sup>) 2958 (CH), 1742 (CO).

**(3*R*,5*R*)-3-(benzilossimetil)-2-((*S*)-1-etossi-1-oxo-1-osso-3-fenilpropan-2-il)isossazolidin-5-carbossilato di metile (29l)**

Da 0.66 g di **28l**, 0.175 g di acrilato di metile in toluene, seguendo il *metodo B*, dopo 12 h, sono stati ottenuti 0.51 g di **29l**, con una resa del 50%, dopo colonna flash (AcOEt:n-esano 3:7) (*d.r.* 1:0.5:0.3). Attraverso una ulteriore purificazione per HPLC (n-esano/i-propanolo 99:1) è stato ottenuto il composto maggioritario puro. Olio incolore;  $[\alpha]_D^{25} = +8.9367$  (*c* 1.5, CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 Mz)  $\delta$  0.94 (t, 3H), 2.49 (ddd, 1H, *J* = 12.8, 7.7 Hz), 2.61 (ddd, 1H, *J* = 12.8, 8.7 Hz), 2.99 (dd, 1H, *J* = 13.2, 10.5 Hz), 3.31 (dd, 1H, *J* = 9.4, 7.8 Hz), 3.45 (dd, 1H, *J* = 13.2, 4.3 Hz), 3.51 (dd, 1H, *J* = 9.4, 5.5 Hz), 3.59 (ddd, 1H, *J* = 7.8, 5.5 Hz), 3.73 (s, 3H), 3.83-3.94 (m, 3H), 4.46 (d, 2H), 4.51 (t, 1H), 7.10, 7.29 (m, 10H); <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz)  $\delta$  172.6 (CO), 170.6 (CO), 137.9 (C-Ar), 137.1 (C-Ar), 129.4 (CH-Ar), 128.4 (CH-Ar), 128.2 (CH-Ar), 127.7 (CH-Ar), 126.5 (CH-Ar), 76.7 (C-5), 73.4 (CH<sub>2</sub>(Bn)), 71.1 (CH-Bn), 70.8 (CH<sub>2</sub>-OBn), 63.3 (C-3), 60.8 (CH<sub>2</sub>(OEt)), 52.4 (CH<sub>3</sub>(OMe)), 36.8 (CH<sub>2</sub>(Ph)), 34.9 (C-4), 13.9 (CH<sub>3</sub>(OEt)). HRMS: *m/z* [M + H]<sup>+</sup> Calc. per C<sub>24</sub>H<sub>30</sub>NO<sub>6</sub> 428.1995 trovata 428.2075. Anal. Calc per C<sub>24</sub>H<sub>29</sub>NO<sub>6</sub>: C, 67.43; H, 6.84; N, 3.28 Trovata: C, 67.41; H, 6.81; N, 3.24. IR (film, cm<sup>-1</sup>) 2952 (CH), 1739 (CO).

**(3*R*,5*R*)-2-((*S*)-1-etossi-1-osso-3-fenilpropan-2-il)-3-fenilisossazolidin-5-carbossilato di metile (29m)**

Da 0.11 g di **28m**, 0.033 g di acrilato di metile in toluene, seguendo il *metodo B*, dopo 12 h, sono stati ottenuti 0.116 g di **29l**, con una resa del 82%, dopo colonna flash a gradiente (AcOEt:n-esano 1:9, 1:4) (*d.r.* 1:0.2:0.2). Attraverso una ulteriore purificazione per HPLC (n-esano/*i*-PrOH 99:1) è stato ottenuto il composto maggioritario puro. Olio incolore;  $[\alpha]_D^{25} = +36.3450$  (*c* 0.9, CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 Mz)  $\delta$  0.96 (t, 3H), 2.73 (ddd, 1H, *J* = 13.0, 8.7, 6.5 Hz), 2.85 (ddd, 1H, *J* = 13.0, 7.2, 5.9 Hz), 3.05 (dd, 1H, *J* = 13.3, 10.5 Hz), 3.37 (dd, 1H, *J* = 13.3, 4.3 Hz), 3.74-3.78 (m, 2H), 3.82 (s, 3H), 3.92 (dd, 1H, *J* = 10.5, 4.3 Hz), 4.40 (t, 1H), 4.70 (dd, 1H, *J* = 8.7, 5.9 Hz), 7.13-7.41 (m, 10H); <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz)  $\delta$  172.1 (CO), 170.2 (CO), 138.9 (C-Ar), 137.2 (C-Ar), 129.3 (CH-Ar), 128.5 (CH-Ar), 128.3 (CH-Ar), 127.8 (CH-Ar), 127.5 (CH-Ar), 126.5 (CH-Ar), 75.9 (C-5), 70.9 (CH-Ph), 66.6 (C-3), 60.6 (CH<sub>2</sub>(OEt), 52.4 (CH<sub>3</sub>-O), 42.6 (C-4), 36.2 (CH<sub>2</sub>(Bn)), 13.8 (CH<sub>3</sub>(OEt)). HRMS: *m/z* [M + H]<sup>+</sup> Calc. per C<sub>22</sub>H<sub>26</sub>NO<sub>5</sub> 384,1733 trovata 384,1805. Anal. Calc per C<sub>22</sub>H<sub>25</sub>NO<sub>5</sub>: C, 68.91; H, 6.57; N, 3.65 Trovata: C, 68.93; H, 6.59; N, 3.67. IR (film, cm<sup>-1</sup>) 2953 (CH), 1740 (CO).

**(3*R*,5*R*)-2-((*S*)-1-etossi-1-osso-3-fenilpropan-2-il)-3-(furan-2-il)isossazolidin-5-carbossilato di metile (29n)**

Da 0.18 g di **28n**, 0.056 ml di acrilato di metile (2 eq), seguendo il *metodo B*, dopo 36 h, sono stati ottenuti 0.19 g di **29n**, con una resa del 81%. (*d.r.* 1:0.7:0.3). Attraverso una purificazione per HPLC (n-esano/*i*-PrOH 98:2) è stato ottenuto il composto maggioritario puro Olio incolore;  $[\alpha]_D^{25} = +2.13$  (*c* 1, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>); <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 Mz)  $\delta$  1.01 (t, 3H, *J* = 7.1 Hz), 2.80 (ddd, 1H, *J* = 13.1, 7.5, 7.0 Hz), 2.91 (ddd, 1H, *J* = 13.1, 8.7, 4.6 Hz), 3.05 (dd, 1H, *J* = 13.1, 10.8 Hz), 3.34 (dd, 1H, *J* = 13.1, 4.2 Hz), 3.73-3.76 (m, 1H), 3.81 (s, 3H), 3.93 (q, 1H, *J* = 7.1 Hz), 4.58 (dd, 1H, *J* = 7.5, 4.6 Hz), 4.77 (dd, 1H, *J* = 8.7, 7.0 Hz), 6.29 (d, 1H, *J* = 3.2 Hz), 6.34 (dd, 1H, *J* = 1.9 Hz, *J* = 3.2 Hz), 7.13-7.24 (m, 5H), 7.41-7.42 (m, 1H). <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz)  $\delta$  172.0 (CO), 170.5 (CO), 151.3 (C-Fu), 142.8 (CH-Fu), 136.9 (C-Ph), ), 129.1, 128.2, 126.5 (CH-Ph) 110.5, 108.6 (CH-Fu), 75.9 (C-5), 70.3 (C-3), 60.7 (CH<sub>2</sub> (OEt)), 60.1 (CH-Bn), 52.4 (CH<sub>3</sub>(OMe), 38.2 (C-4), 36.6 (CH<sub>2</sub>(Bn), 13.7 (CH<sub>3</sub>(OEt)). HRMS: *m/z* [M + Na]<sup>+</sup> Calc. per C<sub>20</sub>H<sub>23</sub>NNaO<sub>6</sub> 396,1525 trovata 396,1410. Anal. Calc per C<sub>20</sub>H<sub>23</sub>NO<sub>6</sub>: C, 64.33; H, 6.21; N, 3.75 Trovata: C, 64.30; H, 6.19; N, 3.73. IR (film, cm<sup>-1</sup>) 2954 (CH), 1740 (CO).



### Sintesi di (S)-2-((3R,5R)-3-idrossi-5-isopropil -2-ossopirrolidin-1-il) propanoato di etile (30e)

Ad una soluzione del cicloaddotto **29e** (0.16 g, 0.66 mmol) in EtOH è stato aggiunto Pd(OH)<sub>2</sub>-C (40 mg) e la miscela ottenuta è stata agitata per 4 giorni a temperatura ambiente, sotto una pressione di 100 atm. La miscela di reazione è stata, quindi, filtrata, evaporata a pressione ridotta, ed il residuo purificato attraverso una colonna flash, utilizzando una miscela di acetato di etile/n-esano 1:4, come eluente. Il prodotto eluito **30e** (0.15 g, resa 99%) presenta l'aspetto di olio incolore.  $[\alpha]_D^{25} = +9.7603$  (*c* 1.5, CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 0.89 (d, 3H, *J* = 6.8 Hz), 0.96 (d, 3H, *J* = 6.7 Hz), 1.27 (t, 3H, *J* = 7.2 Hz), 1.33 (d, 3H, *J* = 7.0 Hz), 1.75-1.89 (m, 3H), 2.51 (ddd, 1H, *J* = 7.4, 6.1 Hz), 3.45 (q, 1H, *J* = 7.0 Hz), 4.18 (q, 1H, *J* = 7.2 Hz), 4.53 (dd, 1H, *J* = 7.4, 3.5 Hz). <sup>13</sup>C NMR (120 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 175.2 (CO), 174.8 (CO), 70.2 (C-3), 61.0 (CH<sub>2</sub>(OEt)), 60.9 (C-5), 54.2 (CH-CH<sub>3</sub>) 30.9 (C-4), 29.0 (CH-(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 19.9 (CH<sub>3</sub>-CHCH<sub>3</sub>), 19.5 (CH<sub>3</sub>-CHCH<sub>3</sub>), 17.0 (CH<sub>3</sub>), 14.1 (CH<sub>3</sub>(OEt)). HRMS: *m/z* [M + Na]<sup>+</sup> Calc. per C<sub>12</sub>H<sub>21</sub>NNaO<sub>4</sub> 266.1369 Trovata 266.1363 Anal. Calc. per C<sub>12</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>4</sub> : C, 59.24; H, 8.70; N, 5.76. Trovata: C, 59.26; H, 8.73; N, 5.79. IR (film, cm<sup>-1</sup>) 3380 (OH), 2959 (CH), 1735 (CO).

### Sintesi di (S)-2-((3R,5R)-3-idrossi-5-isopropil-2-ossopirrolidin-1-il)-3-fenil propanoato di etile (30i)

Ad una soluzione del cicloaddotto **29i** (0.08 g, 0.25 mmol) in EtOH è stato aggiunto Pd(OH)<sub>2</sub>-C (10 mg) e la miscela ottenuta è stata agitata per 48 h a temperatura ambiente, sotto una pressione di 100 atm. La miscela di reazione è stata, quindi, filtrata, evaporata a pressione ridotta, ed il residuo purificato attraverso una colonna flash, utilizzando una miscela di acetato di etile/n-esano 1:4, come eluente. Il prodotto eluito **30i** (0.079 g, resa 99%) presenta l'aspetto di olio incolore.  $[\alpha]_D^{25} = -1.5542$  (*c* 0.5, CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 0.85 (d, 3H, *J* = 6.8 Hz), 0.88 (d, 3H, *J* = 6.7 Hz), 1.11 (t, 3H, *J* = 7.1 Hz), 1.69-1.83 (m, 3H), 2.48 (ddd, 1H, *J* = 7.4, 6.1, 3.0 Hz), 2.89 (dd, 1H, *J* = 13.4, 7.7 Hz), 3.02 (dd, 1H, *J* = 13.4, 6.0 Hz), 3.61 (dd, 1H, *J* = 7.7, 6.0 Hz), 4.04 (q, 2H, *J* = 7.1 Hz), 4.43 (dd, 1H, *J* = 8.0, 3.4 Hz), 7.14-7.29 (m, 5H). <sup>13</sup>C NMR (120 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 174.9 (CO), 174.5 (CO), 136.6 (C-Ar), 129.2 (CH-Ar), 128.3 (CH-Ar), 126.7 (CH-Ar), 69.7 (C-3), 61.4 (CH-Bn), 61.1 (C-5), 60.8 (CH<sub>2</sub>(OEt)), 40.6 (CH<sub>2</sub>(Bn)), 31.4 (C-4), 29.5 (CH-(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 19.8 (CH<sub>3</sub>-CHCH<sub>3</sub>), 17.0 (CH<sub>3</sub>-CHCH<sub>3</sub>), 13.9 (CH<sub>3</sub>(OEt)). HRMS: *m/z* [M + Na]<sup>+</sup> Calc. per C<sub>18</sub>H<sub>25</sub>NNaO<sub>4</sub> 342.1682 trovata 342.2178. Anal. Calc. per C<sub>18</sub>H<sub>25</sub>NO<sub>4</sub> : C,

67.69; H, 7.89; N, 4.39 Trovata: C, 67.73; H, 7.90; N, 4.41. IR (film,  $\text{cm}^{-1}$ ) 3375 (OH), 2957 (CH), 1733 (CO).

### **Procedura generale per la sintesi degli esteri di Mosher 31 e 32**

Ad una soluzione di pirrolidinone **30e** (1.0 mmol) in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  anidro (30.6 ml) sono stati aggiunti il corrispondente acido 2-metossi-2-fenil-2-(trifluorometil)acetico (1.24 mmol), DCC (1.5 mmol) e DMAP (0.1 mmol). La miscela ottenuta è stata mantenuta in agitazione magnetica per 12 h a temperatura ambiente ed in seguito è stato eliminato il solvente per evaporazione a pressione ridotta. Il residuo ottenuto è stato purificato mediante colonna flash, utilizzando come miscela eluente acetato di etile/n-esano 1:4. Un ulteriore purificazione è stata eseguita utilizzando una cromatografia ad alta pressione (HPLC, *i*-PrOH/n-esano 3:97).

### **(*R*)-((3*R*,5*R*)-1-((*S*)-1-etossi-2-ossopropan-2-il)-5-isopropil-2-ossopirrolidin-3-il)-3,3,3-trifluoro-2-metossi-2-fenilpropanoato (31)**

Da 0.046 g di **30e**, con 0.058 g di DCC, 0.0023 g di DMAP e (*R*)-MTPA (0.055 g), in 6 ml di  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  anidro, seguendo la procedura sopra descritta, sono stati ottenuti 0.04 g di **31**. Solido bianco; resa: 60%,  $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +31.3080$  (*c* 1.25,  $\text{CH}_3\text{OH}$ ).  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  0.69 (d, 3H,  $J = 6.7$  Hz), 0.86 (d, 3H,  $J = 6.9$  Hz), 1.21 (t, 3H,  $J = 7.1$  Hz), 1.43 (d, 3H,  $J = 7.2$  Hz), 1.67 (ddd, 1H,  $J = 13.9, 6.4$  Hz), 2.05 (dtd, 1H,  $J = 6.9, 6.7, 3.4$  Hz), 2.44 (ddd, 1H,  $J = 13.9, 9.4, 7.6$  Hz), 3.62 (s, 3H), 3.66 (ddd, 1H,  $J = 7.6, 6.4, 3.4$  Hz), 4.16-4.27 (m, 3H), 5.59 (dd, 1H,  $J = 9.4, 6.4$  Hz), 7.39-7.41 (m, 3H), 7.58-7.61 (m, 2H).  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 200 MHz)  $\delta$  170.0 (CO), 169.4 (CO), 165.9 (CO), 132.0 (C-Ar), 129.6 (CH-Ar), 128.4 (CH-Ar), 127.3 (CH-Ar), 124.6 ( $\text{CF}_3$ ), 71.1 (C-3), 61.5 ( $\text{CH}_2(\text{OEt})$ ), 59.9 (C-5), 55.7 ( $\text{CH}-\text{CH}_3$ ), 50.9 ( $\text{CH}_3-\text{O}$ ), 28.2 ( $\text{CH}-(\text{CH}_3)_3$ ), 24.8 (C-4), 18.7 ( $\text{CH}_3-\text{CHCH}_3$ ), 14.6 ( $\text{CH}_3-\text{CHCH}_3$ ), 13.9 ( $\text{CH}_3-\text{CH}$ ), 13.6 ( $\text{CH}_3(\text{OEt})$ ). HRMS:  $m/z$   $[\text{M} + \text{Na}]^+$  Calc. per  $\text{C}_{22}\text{H}_{28}\text{F}_3\text{NaNO}_6$ : 482,1869 trovata 482,1768. Anal. Calc. per  $\text{C}_{22}\text{H}_{28}\text{F}_3\text{NO}_6$ : C, 57.51; H, 6.14; F, 12.40; N, 3.05 Trovata: C, 57.53; H, 6.18; F, 12.42; N, 3.12. IR (film,  $\text{cm}^{-1}$ ) 2927 (CH), 1700 (CO), 1650 (CO).

**(S)-((3R,5R)-1-((S)-1-etossi-2-ossopropan-2-il)-5-isopropil-2-ossopirrolidin-3-il)  
3,3,3-trifluoro-2- metossi-2-fenilpropanoato (32)**

Da 0.05 g di **30e**, con 0.063 g di DCC, 0.0025 g di DMAP e (S)-MTPA (0.06 g) , in 6 ml di CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> anidro, seguendo la procedura sopra descritta, sono stati ottenuti 0.05 g di **32**. Solido bianco; resa: 60%,  $[\alpha]_D^{25} = -3.6538$  (*c* 0.8, CH<sub>3</sub>OH). <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ 0.88 (d, 3H, *J* = 6.7 Hz), 0.93 (d, 3H, *J* = 6.9 Hz), 1.20 (t, 3H, *J* = 7.1 Hz), 1.43 (d, 3H, *J* = 7.1 Hz), 1.86 (ddd, 1H, *J* = 13.8, 7.0 Hz), 2.12 (dtd, 1H, *J* = 6.9, 6.7, 3.4 Hz), 2.49 (ddd, 1H, *J* = 13.8, 9.4 Hz), 3.52 (s, 3H), 3.69 (ddd, 1H, *J* = 7.1, 3.5 Hz), 4.17 (q, 2H, *J* = 7.1 Hz), 4.26 (q, 1H, *J* = 7.1 Hz), 5.53 (dd, 1H, *J* = 9.4, 7.0 Hz), 7.39-7.41 (m, 3H), 7.58-7.61 (m, 2H). <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 200 MHz) δ 170.0 (CO), 169.4 (CO), 165.8 (CO), 131.4 (C-Ar), 129.7 (CH-Ar), 128.4 (CH-Ar), 127.8 (CH-Ar), 124.5 (CF<sub>3</sub>), 71.4 (C-3), 61.5 (CH<sub>2</sub>(OEt)), 59.7 (C-5), 55.4 (CH-CH<sub>3</sub>), 50.9 (CH<sub>3</sub>-O), 28.2 (CH-(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 24.9 (C-4), 18.7 (CH<sub>3</sub>-CHCH<sub>3</sub>), 14.6 (CH<sub>3</sub>-CHCH<sub>3</sub>), 13.9 (CH<sub>3</sub>-CH), 13.8 (CH<sub>3</sub>(OEt)). HRMS: *m/z* [M + Na]<sup>+</sup> Calc. per C<sub>22</sub>H<sub>28</sub>F<sub>3</sub>NNaO<sub>6</sub>: 482,1869 trovata 482,1730. Anal. Calc. per C<sub>22</sub>H<sub>28</sub>F<sub>3</sub>NO<sub>6</sub>: C, 57.51; H, 6.14; F, 12.40; N, 3.05 Trovata: C, 57.53; H, 6.18; F, 12.42; N, 3.12. IR (film, cm<sup>-1</sup>) 2933 (CH), 1750 (CO).

**Procedura generale per la sintesi degli esteri di Mosher 33 e 34**

Ad una soluzione di pirrolidinone **30i** (1.0 mmol) in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> anidro (30.6 ml) sono stati aggiunti il corrispondente acido 2-metossi-2-fenil-2-(trifluorometil)acetico (1.24 mmol), DCC (1.5 mmol) e DMAP (0.1 mmol). La miscela ottenuta è stata mantenuta in agitazione magnetica per 12 h a temperatura ambiente ed in seguito è stato eliminato il solvente per evaporazione a pressione ridotta. Il residuo ottenuto è stata purificato mediante colonna flash, utilizzando come miscela eluente acetato di etile/n-esano 1.5:8.5. Un ulteriore purificazione è stata eseguita utilizzando una cromatografia ad alta pressione (HPLC, *i*-PrOH/n-esano 1:99).

**(R)-((3R,5R)-1-((S)-1-etossi-1-osso-3-fenilpropan-2-il)-5-isopropil-2-ossopirrolidin-3-il) 3,3,3-trifluoro-2- metossi-2-fenilpropanoato (33)**

Da 0.079 g di **30i**, con 0.077 g di DCC, 0.003 g di DMAP e (R)-MTPA (0.072 g) , in 7.5 ml di CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> anidro, seguendo la procedura sopra descritta, sono stati ottenuti 0.06 g di **33**. Solido bianco; resa: 60%,  $[\alpha]_D^{25} = -36.1025$  (*c* 0.6, CH<sub>3</sub>OH). <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ 0.62 (d, 3H, *J* = 6.9 Hz), 0.66 (d, 3H, *J* = 6.7 Hz), 1.20 (t, 3H, *J* = 7.1 Hz), 1.50

(ddd, 1H,  $J = 13.7, 6.4$  Hz), 1.83 (dtd, 1H,  $J = 6.8, 6.7, 3.5$  Hz), 2.04 (ddd, 1H,  $J = 13.7, 9.2, 7.5$  Hz), 2.36 (ddd, 1H,  $J = 7.5, 6.4, 3.5$  Hz), 3.33-3.42 (m, 2H), 3.63 (s, 3H), 3.97 (dd, 1H,  $J = 10.1, 5.8$  Hz), 4.15-4.26 (m, 2H), 5.49 (dd, 1H,  $J = 9.2, 6.4$  Hz), 7.17-7.19 (m, 2H), 7.27-7.33 (m, 3H), 7.38-7.40 (m, 3H), 7.58- 7.61 (m, 2H).  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 200 MHz)  $\delta$  169.1 (CO), 168.9 (CO), 166.0 (CO), 137.7 (C-Ar), 132.0 (C-Ar), 129.6 (CH-Ar), 129.0 (CH-Ar), 128.7 (CH-Ar), 128.4 (CH-Ar), 127.3 (CH-Ar), 127.0 ( $\text{CF}_3$ ), 71.0 (C-3), 61.8 (CH-Bn), 61.6 ( $\text{CH}_2(\text{OEt})$ ), 57.5 ( $\text{CH}_3\text{-O}$ ), 55.7 (C-5), 34.2 ( $\text{CH}_2(\text{Bn})$ ), 27.7 ( $\text{CH}(\text{CH}_3)_3$ ), 25.1 (C-4), 18.6 ( $\text{CH}_3\text{-CHCH}_3$ ), 13.9 ( $\text{CH}_3\text{-CHCH}_3$ ), 13.7 ( $\text{CH}_3(\text{OEt})$ ). HRMS:  $m/z$   $[\text{M} + \text{H}]^+$  Calc. per  $\text{C}_{28}\text{H}_{33}\text{F}_3\text{NO}_6$ : 536.2182 trovata: 536.2266. Anal. Calc. per  $\text{C}_{28}\text{H}_{32}\text{F}_3\text{NO}_6$ : C, 62.79; H, 6.02; F, 10.64; N, 2.62. Trovata: C, 62.82; H, 6.05; F, 10.66; N, 2.65. IR (film,  $\text{cm}^{-1}$ ) 2929 (CH), 1749 (CO).

**(S)-((3R,5R)-1-((S)-1- etossi -1-osso-3-fenilpropan-2-il)-5-isopropil-2-ossopirrolidin-3-il) 3,3,3-trifluoro-2- metossi-2-fenilpropanoato (34)**

Da 0.084g di **30i**, con 0.08 g di DCC, 0.0032 g di DMAP e (S)-MTPA (0.076 g) , in 7.5 ml di  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  anidro, seguendo la procedura sopra descritta, sono stati ottenuti 0.06 g di **34**. Solido bianco; resa: 60%,  $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -74.9855$  ( $c$  0.55,  $\text{CH}_3\text{OH}$ ).  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  0.68 (d, 3H,  $J = 6.9$  Hz), 0.82 (d, 3H,  $J = 6.7$  Hz), 1.18 (t, 3H,  $J = 7.2$  Hz), 1.68 (ddd, 1H,  $J = 13.7, 7.0$  Hz), 1.89 (dtd, 1H,  $J = 6.9, 6.7, 3.4$  Hz), 2.11 (ddd, 1H,  $J = 13.7, 9.3$  Hz), 2.37 (ddd, 1H,  $J = 7.0, 3.4$  Hz), 3.31-3.41 (m, 2H), 3.52 (s, 3H), 3.98 (dd, 1H,  $J = 9.7, 6.3$  Hz), 4.12-4.24 (m, 2H), 5.49 (dd, 1H,  $J = 9.3, 7.0$  Hz), 7.17-7.19 (m, 2H), 7.27-7.33 (m, 3H), 7.40-7.41 (m, 3H), 7.58- 7.61 (m, 2H).  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 200 MHz)  $\delta$  169.1 (CO), 168.9 (CO), 165.9 (CO), 137.7 (C-Ar), 131.4 (C-Ar), 129.6 (CH-Ar), 129.0 (CH-Ar), 128.7 (CH-Ar), 128.4 (CH-Ar), 127.8 (CH-Ar), 127.0 ( $\text{CF}_3$ ), 71.4 (C-3), 61.6 (CH-Bn), 61.4 ( $\text{CH}_2(\text{OEt})$ ), 57.4 ( $\text{CH}_3\text{-O}$ ), 55.4 (C-5), 34.2 ( $\text{CH}_2(\text{Bn})$ ), 27.7 ( $\text{CH}(\text{CH}_3)_3$ ), 25.2 (C-4), 18.6 ( $\text{CH}_3\text{-CHCH}_3$ ), 13.9 ( $\text{CH}_3(\text{OEt})$ ). HRMS:  $m/z$   $[\text{M} + \text{H}]^+$  Calc. per  $\text{C}_{28}\text{H}_{33}\text{F}_3\text{NO}_6$ : 536.2182 trovata 536.2253. Anal. Calc. per  $\text{C}_{28}\text{H}_{32}\text{F}_3\text{NO}_6$ : C, 62.79; H, 6.02; F, 10.64; N, 2.62. Trovata: C, 62.82; H, 6.05; F, 10.66; N, 2.65. IR (film,  $\text{cm}^{-1}$ ) 2958 (CH), 1750 (CO), 1708 (CO).

**Procedura generale per la sintesi dei  $\beta$ -nitroalchilsolfuri (36a-i)**

Una miscela di aldeide (**35a-i**) (1 mmol), allil mercaptano (1.1 mmol) e 0.1 mol di piperidina in 10 ml di THF, è stata agitata magneticamente per 1h a 20 °C, ed in seguito riscaldata per 2h a 80 °C. Trascorso tale tempo, è stata aggiunto THF e la soluzione

ottenuta è stata lavata con HCl diluito, acqua ed infine con una soluzione satura di NaCl. La fase organica è stata anidrificata con solfato di magnesio, filtrata ed essiccata sotto vuoto. L'olio ottenuto è stato purificato attraverso flash cromatografia, utilizzando come eluente una miscela di cicloesano/etere 10:1 per dare una miscela diastereoisomerica dei  $\beta$ -nitroalchilsolfuri **36f**, **36g**, **36h** e **36i**, nei rapporti 1.2:8.8, 1.4:8.6, 2.2:7.8 e 1.6:8.4, rispettivamente, ottenuti dall'integrazione dei segnali dei protoni CH-S presenti negli spettri  $^1\text{H}$  NMR dei corrispondenti crudi di reazione.

2-(Alliltio)-1-nitro-propano (**36a**), -butano (**36b**) e -2-feniletano (**36c**) sono stati preparati in 92, 90 e 94% di resa, rispettivamente dai corrispondenti nitroalcheni, prodotti *in situ*.

**(*R,S*)-2-(Alliltio)-1-nitro-3-fenilpropano (36d).**

Olio incolore, resa 90%.  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{CN}$ ),  $\delta$  2.85 (dd, 1H,  $J = 12.0, 5.0$  Hz,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 2.94 (dd, 1H,  $J = 12.0, 6.5$  Hz,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 3.28 (1H, dd,  $J = 12.5, 7.3$  Hz,  $\text{CH}_2\text{S}$ ), 3.31 (1H, dd,  $J = 12.5, 7.3$  Hz,  $\text{CH}_2\text{S}$ ), 3.54 (1H, m, CHS), 4.43 (dd, 1H,  $J = 12.5, 7.0$  Hz,  $\text{CH}_2\text{NO}_2$ ), 4.65 (dd, 1H,  $J = 12.5, 2.0$  Hz,  $\text{CH}_2\text{NO}_2$ ), 5.19 (1H, dd,  $J = 10.0, 1.5$  Hz,  $=\text{CH}_2$ ), 5.21 (dd, 1H,  $J = 17.0, 1.5$  Hz,  $=\text{CH}_2$ ), 5.75 (1H, ddt,  $J = 17.0, 10.0, 7.3$  Hz,  $=\text{CH}$ ), 7.20-7.28 (5H, m, Ar).  $^{13}\text{C}$  NMR (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  36.2, 40.1, 42.9, 79.5, 118.4, 125.5, 128.3, 129.5, 132.1, 136.4. Anal. Calc. per  $\text{C}_{12}\text{H}_{15}\text{NO}_2\text{S}$ : C, 60.73; H, 6.37; N, 5.90. Trovata: C, 60.77; H, 6.31; N, 5.08. IR (film,  $\text{cm}^{-1}$ ): 2250, 1490 ( $\text{NO}_2$ ).

**(*R,S*)-2-(Alliltio)-3-benzilossi-1-nitropropano (36e)**

Olio incolore, resa 89%.  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{CN}$ ),  $\delta$  3.16 (1H, dd,  $J = 12.0, 7.5$  Hz,  $\text{CH}_2\text{S}$ ), 3.18 (1H, dd,  $J = 12.0, 7.5$  Hz,  $\text{CH}_2\text{S}$ ), 3.42 (m, 1H, CHS), 3.50 (dd, 1H,  $J = 11.5, 5.0$  Hz,  $\text{CH}_2\text{O}$ ), 3.58 (dd, 1H,  $J = 11.5, 6.0$  Hz,  $\text{CH}_2\text{O}$ ), 4.51 (s, 2H,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 4.38 (dd, 1H,  $J = 12.0, 6.0$  Hz,  $\text{CH}_2\text{NO}_2$ ), 4.45 (dd, 1H,  $J = 12.0, 9.0$  Hz,  $\text{CH}_2\text{NO}_2$ ), 5.17 (dd, 1H,  $J = 10.0, 1.6$  Hz,  $=\text{CH}_2$ ), 5.22 (1H, dd,  $J = 16.5, 1.6$  Hz,  $=\text{CH}_2$ ), 5.69 (1H, ddt,  $J = 16.5, 10.0, 7.5$  Hz,  $=\text{CH}$ ), 7.24-7.37 (m, 5H, Ar).  $^{13}\text{C}$  NMR (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  35.8, 42.1, 69.8, 77.4, 77.5, 116.4, 125.5, 127.3, 128.5, 132.1, 137.4. Anal. Calc. per  $\text{C}_{13}\text{H}_{17}\text{NO}_3\text{S}$ : C, 58.40; H, 6.41; N, 5.24. Trovata: C, 58.47; H, 6.39; N, 5.31. IR (film,  $\text{cm}^{-1}$ ): 2240, 1480 ( $\text{NO}_2$ ).

***Rac*-2-(3*R*)-2-(Alliltio)-3,4-bis(benzilossi)-1-nitrobutano (36f)**

Olio incolore, resa 87%.  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{CN}$ ),  $\delta$  3.21 (1H, dd,  $J = 12.5, 7.5$  Hz,  $\text{CH}_2\text{S}$ ), 3.23 (1H, dd,  $J = 12.5, 7.5$  Hz,  $\text{CH}_2\text{S}$ ), 3.31 (m, 1H, CHS), 3.43 (dd, 1H,  $J = 10.5,$

7.5 Hz, CH<sub>2</sub>O), 3.55 (dd, 1H,  $J$  = 10.5, 1.5 Hz, CH<sub>2</sub>O), 3.72 (ddd, 1H,  $J$  = 7.5, 5.5, 1.5 Hz, CHO), 4.33 (dd, 1H,  $J$  = 12.0, 6.5 Hz, CH<sub>2</sub>NO<sub>2</sub>), 4.51 (dd, 1H,  $J$  = 12.0, 9.5 Hz, CH<sub>2</sub>NO<sub>2</sub>), 4.55-4.68 (2H,  $J$  = 11.5 Hz, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.64-4.75 (2H,  $J$  = 11.5 Hz, OCH<sub>2</sub>Ph), 5.16 (dd, 1H,  $J$  = 10.5, 1.5 Hz, =CH<sub>2</sub>), 5.19 (dd, 1H,  $J$  = 16.5, 1.5 Hz, =CH<sub>2</sub>), 5.82 (ddt, 1H,  $J$  = 16.5, 10.5, 7.5 Hz, =CH), 7.22-7.38 (m, 10H, Ar). <sup>13</sup>C NMR (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$  36.3, 43.4, 69.8, 73.1, 73.2, 73.5, 76.2, 77.8, 81.9, 118.4, 126.7, 127.5, 127.8, 127.9, 128.1, 128.2, 128.3, 128.6, 128.8, 132.5, 136.7, 137.9. Anal. Calc. per C<sub>21</sub>H<sub>25</sub>NO<sub>4</sub>S : C, 65.09; H, 6.50; N, 3.61, Trovata: C, 65.21; H, 6.59; N, 3.53. IR (film, cm<sup>-1</sup>): 2260, 1490 (NO<sub>2</sub>).

***Rac-2-(3R,4R)-2-(Alliltio)-3,4,5-tris(benzilossi)-1-nitropentano (36g)***

Olio incolore, resa 88%. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CD<sub>3</sub>CN),  $\delta$  3.34 (dd, 1H,  $J$  = 12.5, 7.5 Hz, CH<sub>2</sub>S), 3.40 (dd, 1H,  $J$  = 12.5, 7.5 Hz, CH<sub>2</sub>S), 3.41 (m, 1H, CHS), 3.60 (dd, 1H,  $J$  = 6.5, 6.0 Hz, SCHCH), 3.69 (dd, 1H,  $J$  = 10.5, 6.5 Hz, OCHCH<sub>2</sub>), 3.73 (dd, 1H,  $J$  = 10.5, 2.5 Hz, OCHCH<sub>2</sub>), 4.11 (ddd, 1H,  $J$  = 7.0, 6.5, 2.5 Hz, OCHCH<sub>2</sub>), 4.36 (dd, 1H,  $J$  = 13.0, 5.5 Hz, CH<sub>2</sub>NO<sub>2</sub>), 4.51-4.54 (2H,  $J$  = 11.5 Hz, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.59 (dd, 1H,  $J$  = 10.0, 5.5 Hz, CH<sub>2</sub>NO<sub>2</sub>), 4.61-4.77 (2H,  $J$  = 11.5 Hz, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.68-5.74 (2H,  $J$  = 12.0 Hz, OCH<sub>2</sub>Ph), 5.17 (dd, 1H,  $J$  = 15.5, 1.5 Hz, =CH<sub>2</sub>), 5.21 (dd, 1H,  $J$  = 9.5, 1.5 Hz, =CH<sub>2</sub>), 5.87 (ddt, 1H,  $J$  = 15.5, 9.5, 7.5 Hz, =CH), 7.23-7.37 (m, 15H, Ar). <sup>13</sup>C NMR (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$  36.2, 44.0, 72.7, 73.4, 73.9, 76.7, 78.4, 118.4, 127.1, 127.3, 127.8, 128.0, 128.3, 128.7, 132.7, 136.6, 138.9, 139.1. Anal. Calc. per C<sub>29</sub>H<sub>33</sub>NO<sub>5</sub>S: C, 68.61; H, 6.55; N, 2.76, Trovata: C, 68.67; H, 6.58; N, 2.73. IR (film, cm<sup>-1</sup>): 2240, 1470 (NO<sub>2</sub>).

***Rac-2-(3S,4S,5S)-2-Allil-3,4,5,6-tetra(benzilossi)-1-nitroesano (36h)***

Olio incolore, resa 84%. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CD<sub>3</sub>CN),  $\delta$  3.31 (dd, 1H,  $J$  = 12.0, 7.0 Hz, CH<sub>2</sub>S), 3.39 (m, 1H, CHS), 3.43 (dd, 1H,  $J$  = 12.0, 7.0 Hz, CH<sub>2</sub>S), 3.61 (dd, 1H,  $J$  = 10.5, 4.5 Hz, OCHCH<sub>2</sub>), 3.72 (dd, 1H,  $J$  = 10.5, 4.5 Hz, OCHCH<sub>2</sub>), 3.79 (dd, 1H,  $J$  = 6.5, 4.5 Hz, SCHCH), 3.88 (dd, 1H,  $J$  = 6.0, 4.5 Hz, OCHCH<sub>2</sub>), 4.28 (dd, 1H,  $J$  = 6.0, 4.5 Hz, OCHCH), 4.37 (dd, 1H,  $J$  = 12.5, 5.5 Hz, CH<sub>2</sub>NO<sub>2</sub>), 4.41-4.62 (2H,  $J$  = 11.5 Hz, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.48 (dd, 1H,  $J$  = 10.0, 5.5 Hz, CH<sub>2</sub>NO<sub>2</sub>), 4.56-4.58 (2H,  $J$  = 11.5 Hz, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.59-4.71 (2H,  $J$  = 11.5 Hz, OCH<sub>2</sub>Ph), 4.61-4.69 (2H,  $J$  = 11.5 Hz, OCH<sub>2</sub>Ph), 5.15 (dd, 1H,  $J$  = 14.5, 1.5 Hz, =CH<sub>2</sub>), 5.23 (dd, 1H,  $J$  = 9.5, 1.5 Hz, =CH<sub>2</sub>), 5.81 (ddt, 1H,  $J$  = 14.5, 9.5, 7.0 Hz, =CH), 7.21-7.36 (m, 20H, Ar). <sup>13</sup>C NMR (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$  36.2, 44.0, 69.7, 72.0, 73.3, 73.4, 74.3, 77.6, 78.6, 118.4, 127.1, 127.3, 127.7, 128.0, 128.1, 128.2, 128.3, 128.4, 136.6,

137.3, 137.7, 138.2. Anal. Calc. per  $C_{37}H_{41}NO_6S$  : C, 70.79; H, 5.68; N, 2.23, Trovata: C, 70.67; H, 5.61; N, 2.33. IR (film,  $cm^{-1}$ ): 2250, 1490 ( $NO_2$ ).

***Rac-2-(3R,4S,5R,6R)-2-Alil-3,4,5,6,7-pentai(benzilossi)-1-nitroeptano (36i)***

Olio incolore, resa 84%.  $^1H$  NMR (500 MHz,  $CD_3CN$ ),  $\delta$  3.36 (dd, 1H,  $J = 12.5, 7.0$ , Hz,  $CH_2S$ ), 3.41 (m, 1H,  $CHS$ ), 3.46 (dd, 1H,  $J = 12.5, 7.0$  Hz,  $CH_2S$ ), 3.55 (dd, 1H,  $J = 10.5, 4.5$  Hz,  $OCHCH_2$ ), 3.68 (dd, 1H,  $J = 10.5, 4.5$  Hz,  $OCHCH_2$ ), 3.71 (dd, 1H,  $J = 4.5, 6.5$  SCHCH), 3.80 (dd, 1H,  $J = 6.0, 4.5$   $OCHCH_2$ ), 4.04 (dd, 1H,  $J = 6.0, 4.5$  CHCHCH), 4.11 (dd, 1H,  $J = 6.0, 4.5$   $OCHCH$ ), 4.36 (dd, 1H,  $J = 12.5, 5.5$  Hz,  $CH_2NO_2$ ), 4.38-4.52 (2H,  $J = 11.5$  Hz,  $OCH_2Ph$ ), 4.41 (dd, 1H,  $J = 10.0, 5.5$  Hz,  $CH_2NO_2$ ), 4.46-4.78 (2H,  $J = 11.5$  Hz,  $OCH_2Ph$ ), 4.51-4.68 (2H,  $J = 11.5$  Hz,  $OCH_2Ph$ ), 4.57-4.63 (2H,  $J = 11.5$  Hz,  $OCH_2Ph$ ), 4.59-4.69 (2H,  $J = 11.5$  Hz,  $OCH_2Ph$ ), 5.11 (dd, 1H,  $J = 15.0, 1.5$  Hz,  $=CH_2$ ), 5.21 (dd, 1H,  $J = 9.0, 1.5$  Hz,  $=CH_2$ ), 5.83 (ddt, 1H,  $J = 15.0, 9.0, 7.0$  Hz,  $=CH$ ), 7.23-7.37 (m, 25H, Ar).  $^{13}C$  NMR (50 MHz,  $CDCl_3$ ),  $\delta$  36.2, 44.0, 69.7, 71.6, 72.0, 73.0, 73.6, 74.2, 77.6, 78.1, 80.1, 80.6, 118.4, 127.1, 127.4, 127.5, 127.7, 128.6, 127.9, 128.0, 128.1, 128.2, 128.5, 136.9, 137.5, 137.7, 138.1, 138.4. Anal. Calc. Per  $C_{45}H_{49}NO_7S$ : C, 72.26; H, 6.60; N, 1.87, Trovata: C, 72.34; H, 6.65; N, 1.83. IR (film,  $cm^{-1}$ ): 2280, 1460 ( $NO_2$ ).

**Procedura generale per la sintesi dei nitril ossidi (37a-i) e per la cicloadizione intramolecolare nei corrispondenti 3,3a,4,6-tetraidrotieni[3,4-c]isossazoli (38a-i)**

Ad una soluzione di  $\beta$ -nitroalchil solfuro (2 mmol) in 10 ml di toluene anidro, contenente poche gocce di trietilammina, è stato aggiunto fenil isocianato (6 mmol). La risultante soluzione è stata agitata magneticamente a temperatura ambiente per 3 giorni, ed in seguito è stata filtrata la difenilurea, ed il solvente è stato rimosso a pressione ridotta. Il residuo oleoso è stato purificato attraverso cromatografia su gel di silice, utilizzando come eluente una miscela etere di petrolio: etere 2:1, ottenendo una miscela diastereomerica 1:1.

**6-Metil- (38a), 6-etil- (38b), e 6-fenil-3,4-diidro-3H,6H-tiene[3,4-c]isossazolo (38c)** composti noti in letteratura, sono stati ottenuti con una resa del 80, 74, e 68% rispettivamente.

***Rac-6-benzil-3a,4-diidro-3H,6H-tiene[3,4-c]isossazolo (38d).***

Olio incolore, resa 72%.  $^1H$  NMR (200 MHz,  $CDCl_3$ ),  $\delta$  4.27-4.36 (2H,  $J = 11.5$  Hz,  $OCH_2$ ), 4.27 (dd, 1H,  $J = 5.0, 9.0$  Hz,  $CH_2CHS$ ), 3.64 (m, 2H,  $SCH_2$ ), 3.52 (m, 2H,

CH<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>), 2.87 (ddd, 1H,  $J = 5.0, 9.0, 12.0$  Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 7.18-7.27 (5H, m, Ar). <sup>13</sup>C NMR (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$  32.4, 36.5, 49.0, 58.9, 74.6, 125.8, 128.1, 129.5, 137.3, 157.7. Anal. Calc. per C<sub>12</sub>H<sub>13</sub>NOS: C, 65.72; H, 5.97; N, 6.39, Trovata: C, 65.77; H, 5.91; N, 6.38.

***Rac-6-((benzilossi)methyl)-3a,4-diidro-3H,6H-tiene[3,4-*c*] isossazolo (38e).***

Olio incolore, resa 74%. <sup>1</sup>H NMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  3.43 (m, 3H, SCH<sub>2</sub>CH), 4.34 (m, 2H, OCH<sub>2</sub>), 4.69 (m, 2H, CH<sub>2</sub>Ph), 4.70 (dd, 1H,  $J = 2.5, 7.0$  Hz, CH<sub>2</sub>CHS), 7.22-7.32 (m, 5H, Ar). <sup>13</sup>C NMR (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  32.4, 36.5, 49.0, 58.9, 74.6, 125.8, 128.1, 129.5, 137.3, 157.7. Anal. Calc. per C<sub>13</sub>H<sub>15</sub>NOS (249.32): C, 62.62; H, 6.06; N, 5.63, Trovata: C, 62.67; H, 6.01; N, 5.68.

***Rac-6-((1R)-1,2-bis(benzilossi)etil)-3a,4-diidro-3H,6H-tiene[3,4-*c*]isossazolo (38f).***

Olio incolore, resa 70%. <sup>1</sup>H NMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  3.44-3.60 (2H,  $J = 11.5$  Hz CH<sub>2</sub>CHCH), 3.49 (m, 3H, SCH<sub>2</sub>CH), 4.40 (m, 2H, NOCH<sub>2</sub>), 4.50 (s, 2H, CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>Ph), 4.81 (d, 1H,  $J = 5.5$  Hz, CHS), 5.02-5.12 (2H,  $J = 11.5$  Hz, PhCH<sub>2</sub>OCH), 7.18-7.34 (m, 10H, Ar). <sup>13</sup>C NMR (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  28.3, 50.0, 58.8, 39.1, 72.9, 73.0, 79.6, 127.2, 127.5, 127.8, 128.1, 128.5, 128.8, 137.7, 137.4, 156.0. Anal. Calc. per C<sub>21</sub>H<sub>23</sub>NO<sub>3</sub>S: C, 68.27; H, 6.27; N, 3.79, Trovata: C, 68.31; H, 6.21; N, 3.71.

***Rac-6-((1R,2R)-1,2,3-tris(benzilossi)propil)-3a,4-diidro-3H,6H-tiene[3,4-*c*]isossazolo (38g).***

Olio incolore, resa 70%. <sup>1</sup>H NMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  3.45 (m, 3H, SCH<sub>2</sub>CH), 3.55 (m, 1H, SCHCH), 3.84 (m, 2H, BnOCH<sub>2</sub>CH), 4.10 (m, 1H, CH<sub>2</sub>CHCH), 4.30 (m, 1H, NOCH<sub>2</sub>), 4.37 (m, 1H, OCH<sub>2</sub>), 4.70 (s, 2H, CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>Ph), 4.75 (d, 1H,  $J = 5.5$  Hz, CHS), 4.86-4.96 (2H,  $J = 11.5$  Hz, PhCH<sub>2</sub>OCH), 5.05-5.15 (2H,  $J = 11.5$  Hz, PhCH<sub>2</sub>OCH), 7.15-7.31 (m, 15H, Ar). <sup>13</sup>C NMR (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  28.1, 49.0, 57.7, 70.8, 71.9, 73.3, 73.7, 73.9, 81.3, 127.0, 127.5, 127.8, 128.1, 128.3, 128.6, 128.8, 137.5, 138.8, 157.3. Anal. Calc. per C<sub>29</sub>H<sub>31</sub>NO<sub>4</sub>S: C, 71.14; H, 6.38; N, 2.86, Trovata: C, 71.11; H, 6.36; N, 2.81.

***Rac-6-((1R,2S,3S)-1,2,3,4-tetra(benzilossi)butil)-3a,4-diidro-3H,6H-tiene[3,4-*c*]isossazolo (38h).***

Olio incolore, resa 64%. <sup>1</sup>H NMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  3.48 (m, 3H, SCH<sub>2</sub>CH), 3.74 (m, 3H, BnOCH<sub>2</sub>CHCHCH), 3.91 (m, 1H, CH), 4.29 (m, 1H, NOCH<sub>2</sub>), 4.36 (m, 1H,



NOCH<sub>2</sub>), 4.41 (dd, 1H,  $J = 4.0, 6.5$  Hz, CHCHCH), 4.68 (s, 2H, CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>Ph), 4.72 (d, 1H,  $J = 5.5$  Hz, CHS), 4.89-4.99 (2H,  $J = 11.5$  Hz, PhCH<sub>2</sub>OCH), 4.94-5.04 (2H,  $J = 11.5$  Hz, PhCH<sub>2</sub>OCH), 5.07-5.17 (2H,  $J = 11.5$  Hz, PhCH<sub>2</sub>OCH), 7.14-7.30 (m, 20H, Ar). <sup>13</sup>C NMR (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$  27.9, 49.5, 68.8, 57.4, 71.9, 73.4, 73.5, 73.7, 77.2, 80.4, 80.5, 127.3, 127.4, 127.5, 127.9, 128.1, 128.3, 128.8, 129.1, 137.4, 137.8, 138.1, 138.2, 156.6. Anal. Calc. per C<sub>37</sub>H<sub>39</sub>NO<sub>5</sub>S: C, 72.88; H, 6.45; N, 2.30, Trovata: C, 72.92; H, 6.41; N, 2.27.

***Rac-6-((1R,2S,3R,4R)-1,2,3,4,5-penta (benzilossi)pentil)-3a,4-diidro-3H,6H-tiene [3,4-c] isossazolo (38i).***

Olio incolore, resa 60%. <sup>1</sup>H NMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$  3.42-3.52 (m, 3H, SCH<sub>2</sub>CH), 3.73 (dd, 1H,  $J = 3.5, 5.5$  Hz, SCHCHO), 3.77 (m, 1H, CH), 3.82 (m, 2H, BnOCH<sub>2</sub>), 4.15 (dd, 1H,  $J = 2.5, 5.5$  Hz, CH<sub>2</sub>CHCHCH), 4.28-4.35 (m, 2H, NOCH<sub>2</sub>), 4.41 (m, 1H, CHOBn), 4.76 (d, 1H,  $J = 5.5$  Hz, CHS), 4.91-5.01 (2H,  $J = 11.5$  Hz, PhCH<sub>2</sub>OCH), 4.95-5.05 (2H,  $J = 11.5$  Hz, PhCH<sub>2</sub>OCH), 4.97-5.07 (2H,  $J = 11.5$  Hz, PhCH<sub>2</sub>OCH), 5.06-5.16 (2H,  $J = 11.5$  Hz, PhCH<sub>2</sub>OCH), 7.11-7.32 (m, 25H, Ar). <sup>13</sup>C NMR (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$  28.1, 48.7, 56.4, 69.4, 71.8, 72.0, 72.9, 73.1, 73.3, 73.7, 79.8, 79.9, 80.6, 127.4, 127.7, 127.8, 127.9, 128.0, 128.4, 128.7, 129.0, 129.1, 137.4, 137.7, 137.8, 137.9, 138.1, 158.0. Anal. Calc. per C<sub>45</sub>H<sub>47</sub>NO<sub>6</sub>S: C, 74.05; H, 6.49; N, 1.92, Trovata: C, 74.12; H, 6.41; N, 1.97.

**Procedura generale per l'ossidazione di 38a-i e successiva reazione di Pummerer**

Ad una soluzione di 3a,4,-tetraidro-3H,6H-tiene[3,4-c]isossazolo (**38a-i**) (1 mmol) e cloruro ferrico (0.03 mmol) in 3 ml di acetonitrile, è stata aggiunto acido periodico (1.2 mmol) in 2 ml di acetonitrile. Dopo la scomparsa del prodotto di partenza, monitorato attraverso cromatografia su strato sottile (TLC), la miscela di reazione è stata evaporata ed al residuo è stato aggiunta una soluzione satura di tiosolfato di sodio, ed in seguito è stato estratto con diclorometano. Le fasi organiche riunite sono state lavate con acqua, anidificate con solfato di magnesio, filtrate ed essiccate sotto vuoto. Il residuo è stato trattato con anidride acetica (5 ml) a 100°C per 1h. Trascorso tale tempo, dopo raffreddamento fino a temperatura ambiente, è stato aggiunto ghiaccio. La fase organica è stata lavata con una soluzione satura di bicarbonato di sodio, seguita da brine, ed in seguito anidrificata ed evaporata a bassa pressione, per dare un residuo che è stato purificato per cromatografia flash (cicloesano : etil acetato 2:1).

**6-Metil-1*H*,3*H*-tiente[3,4-*c*]isossazolo (40a)**

Olio incolore, resa 75%. <sup>1</sup>H NMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>), δ 1.92 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 4.86 (s, 2H, OCH<sub>2</sub>), 6.28 (s, 1H, H<sub>4</sub>), 10.15 (s, 1H, NH). <sup>13</sup>C NMR (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>), δ 12.6, 67.9, 114.5, 123.1, 125.5, 149.1. Anal. Calc. per C<sub>6</sub>H<sub>7</sub>NOS: C, 51.04; H, 5.00; N, 9.92, Trovata: C, 51.11; H, 5.01; N, 9.98.

**6-Etil-1*H*,3*H*- tiente[3,4-*c*]isossazolo (40b)**

Olio incolore, resa 72%. <sup>1</sup>H NMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>), δ 1.32 (t, 3H, *J* = 7.5 Hz, CH<sub>3</sub>), 2.87 (q, 2H, *J* = 7.5, 12.0 Hz, CH<sub>2</sub>), 4.98 (s, 2H, H<sub>3a,b</sub>), 6.30 (s, 1H, H<sub>4</sub>), 10.20 (s, 1H, NH). <sup>13</sup>C NMR (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>), δ 15.9, 21.3, 69.7, 112.7, 114.0, 123.9, 149.4. Anal. Calc. per C<sub>7</sub>H<sub>9</sub>NOS: C, 54.17; H, 5.84; N, 9.02, Trovata: C, 54.21; H, 5.81; N, 9.08.

**6-Fenil-1*H*,3*H*- tiente[3,4-*c*]isossazolo (40c)**

Olio incolore, resa 75%. <sup>1</sup>H NMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>), δ 4.75 (s, 2H, H<sub>3</sub>), 6.41 (s, 1H, H<sub>4</sub>), 7.26-7.30 (m, 5H, Ar), 10.01 (s, 1H, NH). <sup>13</sup>C NMR (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>), δ 68.3, 115.3, 119.0, 122.6, 126.4, 127.8, 128.1, 133.8, 145.7. Anal. Calc. per C<sub>11</sub>H<sub>9</sub>NOS: C, 65.00; H, 4.46; N, 6.89, Trovata: C, 65.08; H, 4.41; N, 6.91.

**6-Benzil-1*H*,3*H*-tiente[3,4-*c*]isossazolo (40d)**

Olio incolore, resa 70%. <sup>1</sup>H NMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>), δ 3.71 (s, 2H, CH<sub>2</sub>Ph), 4.79 (s, 2H, H<sub>3a,b</sub>), 6.17 (s, 1H, =CH), 7.21-7.30 (m, 5H, Ar), 9.89 (s, 1H, NH). <sup>13</sup>C NMR (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>), δ 149.7, 140.7, 31.6, 66.4, 114.7, 121.4, 125.8, 126.2, 128.7, 129.7. Anal. Calc. per C<sub>12</sub>H<sub>11</sub>NOS: C, 66.33; H, 5.20; N, 6.05, Trovata: C, 66.28; H, 5.11; N, 6.08.

**6-((Benzilossi)metil)-1*H*,3*H*- tiente[3,4-*c*]isossazolo (40e)**

Olio incolore, resa 74%. <sup>1</sup>H NMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>), δ 4.13 (s, 2H, OCH<sub>2</sub>), 4.33 (s, 2H, CH<sub>2</sub>Ph), 4.91 (s, sH, H<sub>3a,b</sub>), 6.31 (s, 1H, H<sub>4</sub>), 7.21-7.30 (m, 5H, Ar), 9.90 (s, 1H, NH). <sup>13</sup>C NMR (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>), δ 64.2, 66.4, 73.7, 114.7, 121.4, 122.3, 125.8, 126.2, 128.7, 129.7, 139.7, 149.7. Anal. Calc. per C<sub>13</sub>H<sub>13</sub>NO<sub>2</sub>S: C, 63.13; H, 5.30; N, 5.66, Trovata: C, 63.18; H, 5.31; N, 5.68.

**6-((1*R*)-1,2-bis(benzilossi)etil)-1*H*,3*H*- tiente[3,4-*c*]isossazolo (40f)**

Olio incolore, resa 72%. <sup>1</sup>H NMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 3.53 (m, 2H, OCH<sub>2</sub>CHO), 4.36-4.53 (2H, *J* = 11.5 Hz, PhCH<sub>2</sub>OCH), 4.66 (s, 2H, PhCH<sub>2</sub>), 4.86 (s, 2H, OCH<sub>2</sub>), 4.98

(m, 1H, =CCHO), 6.39 (s, 1H, =CCH), 7.25-7.38 (m, 10H, Ar), 9.98 (s, 1H, NH). <sup>13</sup>C NMR (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 66.6, 70.4, 72.4, 74.2, 75.7, 114.5, 124.1, 125.3, 126.0, 125.5, 127.7, 128.4, 128.7, 136.9, 138.2, 149.1. Anal. Calc. per C<sub>21</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>3</sub>S: C, 68.64; H, 5.76; N, 3.81, Trovata: C, 68.63; H, 5.78; N, 3.83.

**6-((1R,2R)-1,2,3-Tris(benzilossi)propil)-1H,3H-tiene[3,4-c]isossazolo (40g)**

Olio incolore, resa 73%. <sup>1</sup>H NMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 3.51 (m, 2H, OCH<sub>2</sub>CHO), 4.09 (m, 1H, CH<sub>2</sub>CHCH), 4.52-4.56 (2H, *J* = 11.5 Hz, PhCH<sub>2</sub>OCH), 4.58 (s, 2H, PhCH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>), 4.60-4.70 (2H, *J* = 11.5 Hz, PhCH<sub>2</sub>OCH), 4.71 (s, 2H, OCH<sub>2</sub>), 4.70 (m, 1H, =CCHO), 6.27 (s, 1H, =CCH), 7.37-7.22 (m, 15H, Ar), 9.65 (s, 1H, NH). <sup>13</sup>C NMR (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 66.4, 66.8, 70.3, 73.1, 74.0, 76.4, 81.2, 115.5, 123.1, 124.5, 126.0, 127.5, 127.8, 127.9, 128.1, 128.4, 128.6, 128.7, 137.3, 137.6, 138.4, 148.8. Anal. Calc. per C<sub>29</sub>H<sub>29</sub>NO<sub>4</sub>S: C, 71.43; H, 5.39; N, 2.87, Trovata: C, 71.48; H, 5.41; N, 2.89.

**6-((1S,2R,3R)-1,2,3,4-Tetra (benzilossi)butil)-1H,3H- tiene[3,4-c]isossazolo (40h)**

Olio incolore, resa 70%. <sup>1</sup>H NMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 3.70 (m, 2H, OCH<sub>2</sub>CHO), 3.91 (m, 1H, OCH<sub>2</sub>CH), 3.98 (m, 1H, CHCHCH), 4.11 (m, 1H, CHCHCH), 4.42-4.58 (2H, *J* = 11.5 Hz, PhCH<sub>2</sub>OCH), 4.49-4.51 (2H, *J* = 10.5 Hz, PhCH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>), 4.59 (s, 2H, PhCH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>), 4.61-4.69 (2H, *J* = 11.5 Hz, PhCH<sub>2</sub>OCH), 4.70 (m, 1H, =CCHO), 4.85 (s, 2H, OCH<sub>2</sub>), 6.40 (s, 1H, =CCH), 7.20-7.37 (m, 20H, Ar), 9.45 (s, 1H, NH). <sup>13</sup>C NMR (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 66.4, 69.8, 70.4, 73.2, 73.5, 73.6, 75.5, 78.5, 82.4, 113.8, 124.0, 124.2, 126.0, 127.4, 127.8, 127.9, 128.2, 128.3, 128.4, 128.6, 128.7, 137.4, 137.5, 137.7, 138.0, 149.3. Anal. Calc. per C<sub>37</sub>H<sub>37</sub>NO<sub>5</sub>S: C, 73.12; H, 6.14; N, 2.30, Trovata: C, 73.18; H, 6.13; N, 2.28.

**6-((1S,2R,3S,4S)-1,2,3,4,5-Penta(benzilossi)pentil)-1H,3H- tiene[3,4-c]isossazolo (40i).** Olio incolore, resa 68%. <sup>1</sup>H NMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 3.67 (m, 2H, OCH<sub>2</sub>CHO), 3.83 (m, 1H, OCH<sub>2</sub>CH), 3.90 (m, 1H, CHCHCH), 4.03 (m, 1H, CHCHCH), 4.32 (m, 1H, CHCHCH), 4.47 (s, 2H, PhCH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>), 4.39-4.46 (2H, *J* = 10.5 Hz, PhCH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>), 4.53-4.48 (2H, *J* = 10.5 Hz, PhCH<sub>2</sub>OCH), 4.60-4.47 (2H, *J* = 11.0 Hz, PhCH<sub>2</sub>OCH), 4.51-4.71 (2H, *J* = 10.5 Hz, PhCH<sub>2</sub>OCH), 4.87 (s, 2H, OCH<sub>2</sub>), 5.02 (m, 1H, =CCHO), 5.91 (s, 1H, =CCH), 7.20-7.36 (m, 25H, Ar), 9.32 (s, 1H, NH). <sup>13</sup>C NMR (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 66.4, 68.7, 70.2, 73.1, 73.2, 74.4, 75.7, 78.8, 78.9, 81.7, 113.6, 123.9, 124.0, 127.2, 127.7, 127.8, 127.9, 128.1, 128.2, 128.3, 128.4, 128.6, 128.7, 136.9, 137.4, 137.9, 138.1, 138.8, 147.5.

Anal. Calc. per  $C_{45}H_{45}NO_6S$ : C, 74.25; H, 6.23; N, 1.92%, Trovata: C, 74.28; H, 6.21; N, 1.95%.

**Procedura generale per la scissione riduttiva di 40a-i per dare gli amminoalcol (41a-i)**

Ad una soluzione di 1*H*,3*H*-tiene[3,4-*c*]isossazolo (**40a-i**) (2 mmol) in 10 ml of THF anidro, è stato aggiunto, goccia a goccia ed a temperature ambiente, litio alluminio idruro (4 mmol), sospeso in 10 ml dello stesso solvente. La miscela è stata riscaldata per 2h, a riflusso, ed in seguito alla scomparsa del prodotto di partenza (monitorato per TLC), sono stati aggiunti 10 ml di una soluzione concentrata di  $Na_2SO_4$ . La soluzione risultante è stata estratta con cloroformio, e le fasi organiche riunite, anidificate con solfato di magnesio e filtrate, sono state evaporate a bassa pressione. Il crudo amminoalcol ottenuto è stato inizialmente cristallizzato con etanolo, ma data l'elevata instabilità è stato direttamente trattato con HCl gassoso in etanolo assoluto. Mediante l'aggiunta di etere assoluto, dopo 2 giorni è stato ottenuto il prodotto cloridrato, come precipitato.

**(4-Ammino-5-metil-3-tienil)metanolo (41a)**

Cristalli incolori, pf 72-74°C, resa 55%.  $^1H$  NMR (200 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  2.21 (s, 3H,  $CH_3$ ), 4.25 (bs, 1H, OH), 4.37 (d, 2H,  $J = 6.5$ ,  $CH_2OH$ ), 6.38 (s, 1H, H-5).  $^{13}C$  NMR (50 MHz,  $CDCl_3$ ),  $\delta$ : 11.1, 60.4, 115.4, 126.2, 126.3, 146.0. Anal. Calc. per  $C_6H_9NOS$  (143,20): C, 50.32, H, 6.33, N, 9.78%, Trovata: C, 50.36; H, 6.31; N, 9.18%. IR (film,  $cm^{-1}$ ): 3360, 2930, 2850.

**(4-Ammino-5-metil-3-tienil)metanolo cloridrato**

Cristalli incolori, pf 174-175°C. Anal. Calc. per  $C_6H_9NOS \cdot HCl$ : C, 40.11; H, 5.61; N, 7.80, Trovata: C, 40.14; H, 5.63; N, 7.84.

**(4-Ammino-5-etil-3-tienil)metanolo (41b)**

Cristalli incolori, pf 69-71°C, resa 58%.  $^1H$  NMR (200 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  1.27 (t, 3H,  $J = 7.5$  Hz,  $CH_3$ ), 2.64 (q, 2H,  $J = 7.5, 12.0$  Hz,  $CH_2$ ), 4.29 (s, 2H,  $CH_2OH$ ), 5.31 (bs, 2H,  $NH_2$ ), 6.29 (s, 1H, =CH).  $^{13}C$  NMR (50 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  16.36, 20.49, 60.17, 113.66, 117.21, 124.59, 146.33. Anal. Calc. per  $C_7H_{11}NOS$ : C, 53.47%; H, 7.05%; N, 8.91%, Trovata: C, 53.51%; H, 7.01%; N, 8.98%. IR (film,  $cm^{-1}$ ): 3370, 2930, 2850.

**(4-Ammino-5-etil-3-tienil)metanolo cloridrato**

Cristalli incolori, pf 168-170°C Anal. Calc. per  $C_7H_{11}NOS \cdot HCl$ : C, 43.41; H, 6.24; N, 7.23%, Trovata: C, 43.44; H, 6.22; N, 7.27%.

**(4-Ammino-5-fenil-3-tienil)metanolo (41c)**

Cristalli incolori, pf 80-82°C, resa 62%.  $^1H$  NMR (200 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  4.35 (d, 2H,  $J = 13.0$  Hz,  $CH_2OH$ ), 5.31 (bs, 2H,  $NH_2$ ), 6.27 (s, 1H,  $=CH$ ), 7.31-7.28 (m, 5H, Ar).  $^{13}C$  NMR (50 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  145.4, 133.7, 129.1, 127.9, 127.1, 125.8, 117.5, 116.0, 61.3, 116.06, 125.82, 127.15, 127.62, 128.37, 129.15, 133.68, 145.45. Anal. Calc.. per  $C_{11}H_{10}NOS$ : C, 64.36; H, 5.40; N, 6.82, Trovata: C, 64.38; H, 5.42; N, 6.88. IR (film,  $cm^{-1}$ ): 3365, 2920, 2860.

**(4-Ammino-5-fenil-3-tienil)metanolo cloridrato**

Cristalli incolori, pf 178-180 °C. Anal. Calc. per  $C_{11}H_{10}NOS \cdot HCl$ : C, 54.65%; H, 5.00%; N, 5.79%. Trovata: C, 54.70%; H, 5.04%; N, 5.73%.

**(4-Ammino-5-benzil-3-tienil)metanolo (41d)**

Cristalli incolori, pf 76-77 °C, resa 60%.  $^1H$  NMR (200 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  7.30-7.21 (m, 5H, H aromatici), 6.23 (s, 1H,  $=CH$ ), 5.31 (bs, 2H,  $NH_2$ ), 4.24 (s, 2H,  $CH_2OH$ ), 3.68 (s, 2H,  $CH_2Ph$ ).  $^{13}C$  NMR (50 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  30.81, 60.46, 115.58, 124.60, 126.51, 126.25, 128.68, 130.08, 140.89, 146.68. Anal. Calc. per  $C_{12}H_{13}NOS$ : C, 65.72%; H, 5.97%; N, 6.39%, Trovata: C, 65.78%; H, 5.92%; N, 6.32%. IR (film,  $cm^{-1}$ ): 3380, 2915, 2870.

**(4-Amino-5-benzil-3-tienil)metanolo cloridrato**

Cristalli incolori, pf 175-177°C. Anal. Calc. per  $C_{12}H_{13}NOS \cdot HCl$ : C, 56.35%; H, 5.52%; N, 5.48%. Trovata: C, 56.39%; H, 5.54%; N, 5.47%.

**{4-Ammino-5-((benzilossi)metil)- 3-tienil}metanolo (41e)**

Solido amorfo, resa 60%, IR (film,  $cm^{-1}$ ) 3370, 2930, 2855.  $^1H$  NMR (200 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  4.50 (d, 2H,  $J = 13.0$  Hz,  $CH_2OH$ ), 4.52 (m, 2H,  $=CCH_2$ ), 4.56 (2H,  $J = 12.0$  Hz,  $CH_2Ph$ ), 5.29 (bs, 2H,  $NH_2$ ), 6.36 (s, 1H,  $=CH$ ), 7.33-7.29 (m, 5H, Ar);  $^{13}C$  NMR (50 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  145.6, 137.8, 128.4, 128.3, 127.5, 126.2, 125.2, 115.3, 73.3, 63.4, 60.2. Anal. Calc. per  $C_{13}H_{15}NO_2S$ : C, 62.62; H, 6.06; N, 5.62, Trovata: C, 62.68; H, 6.63; N, 5.68.

**{4-Ammino-5-((1*R*)-1,2-bis(benzilossi)etil)- 3-tienil}metanolo (41f)**

Olio incolore, resa 58%.  $^1\text{H}$  NMR (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  3.52 (m, 2H,  $\text{OCH}_2\text{CHO}$ ), 4.32 (s, 2H,  $\text{CH}_2\text{OH}$ ), 4.34-4.52 (2H,  $J = 11.5$  Hz,  $\text{PhCH}_2\text{OCH}$ ), 4.65 (2H,  $J = 11.5$  Hz,  $\text{PhCH}_2\text{OCH}$ ), 4.93 (m, 1H,  $=\text{CCHO}$ ), 5.31 (bs, 2H,  $\text{NH}_2$ ), 6.25 (s, 1H,  $=\text{CCH}$ ), 7.24-7.37 (m, 10H, Ar).  $^{13}\text{C}$  NMR (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  146.1, 138.3, 136.9, 128.9, 128.3, 127.6, 127.2, 126.9, 126.0, 125.9, 114.7, 75.7, 74.2, 72.4, 69.9, 60.2. Anal. Calc. per  $\text{C}_{21}\text{H}_{23}\text{NO}_3\text{S}$ : C, 68.27; H, 6.27; N, 3.79, Trovata: C, 68.31; H, 6.23; N, 3.78.

**{4-Ammino-5-((1*R*,2*R*)-1,2,3-tris(benzilossi)propil)-3-tienil}metanolo (41g)**

Olio incolore, resa 55%.  $^1\text{H}$  NMR (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  3.52 (m, 2H,  $\text{OCH}_2\text{CHO}$ ), 4.05 (m, 1H,  $\text{CHCHCH}_2$ ), 4.30 (s, 2H,  $\text{CH}_2\text{OH}$ ), 4.35-4.25 (2H,  $J = 11.5$  Hz,  $\text{PhCH}_2\text{OCH}$ ), 4.40-4.57 (2H,  $J = 11.5$  Hz,  $\text{PhCH}_2\text{OCH}$ ), 4.65-4.75 (2H,  $J = 11.5$  Hz,  $\text{PhCH}_2\text{OCH}$ ), 4.91 (m, 1H,  $=\text{CCHO}$ ), 5.31 (bs, 2H,  $\text{NH}_2$ ), 6.24 (s, 1H,  $=\text{CCH}$ ), 7.24-7.37 (m, 15H, Ar).  $^{13}\text{C}$  NMR (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  145.8, 138.5, 137.7, 137.4, 128.7, 128.6, 128.4, 127.8, 127.7, 126.5, 126.2, 125.7, 114.4, 81.5, 76.5, 74.1, 73.1, 69.8, 66.5, 60.1. Anal. Calc. per  $\text{C}_{29}\text{H}_{31}\text{NO}_4\text{S}$ : C, 71.14; H, 6.38; N, 2.86, Trovata: C, 71.19; H, 6.34; N, 2.83.

**{4-Ammino-5-((1*S*,2*R*,3*R*)-1,2,3,4-tetra (benzilossi)butil)- 3-tienil}metanolo (41h)**

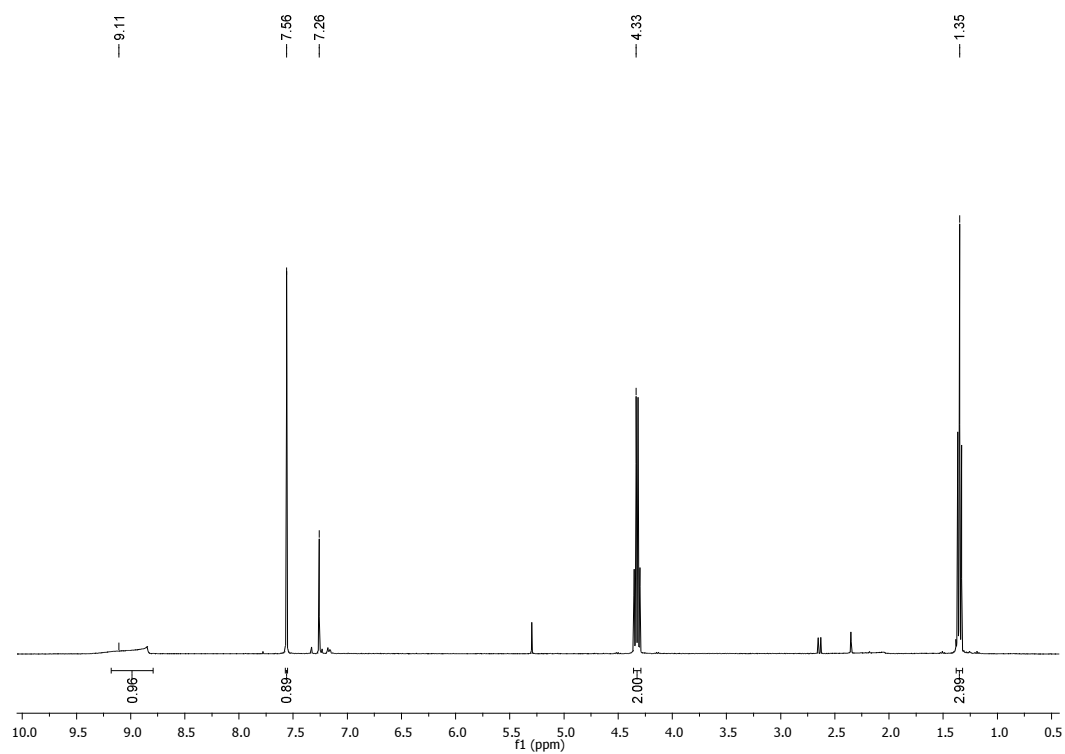
Olio incolore, resa 54%.  $^1\text{H}$  NMR (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  3.97 (m, 1H,  $\text{CHCHCH}$ ); 4.11 (m, 1H,  $\text{CHCHCH}$ ), 4.28 (s, 2H,  $\text{CH}_2\text{OH}$ ), 4.39-4.51 (, 2H,  $J = 11.5$  Hz,  $\text{PhCH}_2\text{OCH}$ ), 4.54 (m, 1H,  $=\text{CCHO}$ ), 4.46-4.61 (2H,  $J = 11.5$  Hz,  $\text{PhCH}_2\text{OCH}$ ), 4.60-4.69 (2H,  $J = 11.5$  Hz,  $\text{PhCH}_2\text{OCH}$ ), 4.51 (s, 2H,  $\text{PhCH}_2\text{OCH}_2$ ), 4.78 (s, 2H,  $\text{OCH}_2$ ), 5.03 (m, 1H,  $=\text{CCHO}$ ), 5.35 (bs, 2H,  $\text{NH}_2$ ), 6.25 (s, 1H,  $=\text{CCH}$ ), 7.23-7.37 (m, 20H, Ar).  $^{13}\text{C}$  NMR (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  145.3, 138.80, 137.8, 137.5, 137.1, 128.7, 128.6, 128.3, 128.2, 128.1, 127.9, 127.8, 127.6, 127.4, 125.9, 114.7, 82.7, 80.1, 77.7, 75.6, 74.7, 73.5, 72.7, 70.1, 69.7, 60.1. Anal. Calc. per  $\text{C}_{37}\text{H}_{39}\text{NO}_5\text{S}$ : C, 72.88; H, 6.45; N, 2.30, Trovata: C, 72.81; H, 6.41; N, 2.27.

**{4-Ammino-5-((1*S*,2*R*,3*S*,4*S*)-1,2,3,4,5-penta(benzilossi)pentil)- 3-tienil}metanolo (41i)** Olio incolore, resa 54%.  $^1\text{H}$  NMR (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  3.64 (m, 2H,  $\text{OCH}_2\text{CHO}$ ), 3.85 (m, 1H,  $\text{OCH}_2\text{CH}$ ), 3.98 (m, 1H,  $\text{CHCHCH}$ ), 4.21 (m, 1H,  $\text{CHCHCH}$ ), 4.30 (m, 2H,  $\text{CH}_2\text{HO}$ ), 4.32 (m, 1H,  $\text{CHCHCH}$ ), 4.47 (s, 2H,  $\text{PhCH}_2\text{OCH}_2$ ), 4.38-4.56 (2H,  $J = 10.5$  Hz,  $\text{PhCH}_2\text{OCH}_2$ ), 4.46-4.63 (2H,  $J = 10.5$  Hz,  $\text{PhCH}_2\text{OCH}$ ), 4.53-4.66 (2H,  $J = 11.0$  Hz,  $\text{PhCH}_2\text{OCH}$ ), 4.51-4.70 (2H,  $J = 10.5$  Hz,  $\text{PhCH}_2\text{OCH}$ ), 5.11 (m, 1H,  $=\text{CCHO}$ ), 5.31 (bs, 2H,  $\text{NH}_2$ ), 6.15 (s, 1H,  $=\text{CCH}$ ), 7.14-7.35 (m, 25H, Ar).  $^{13}\text{C}$  NMR (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$

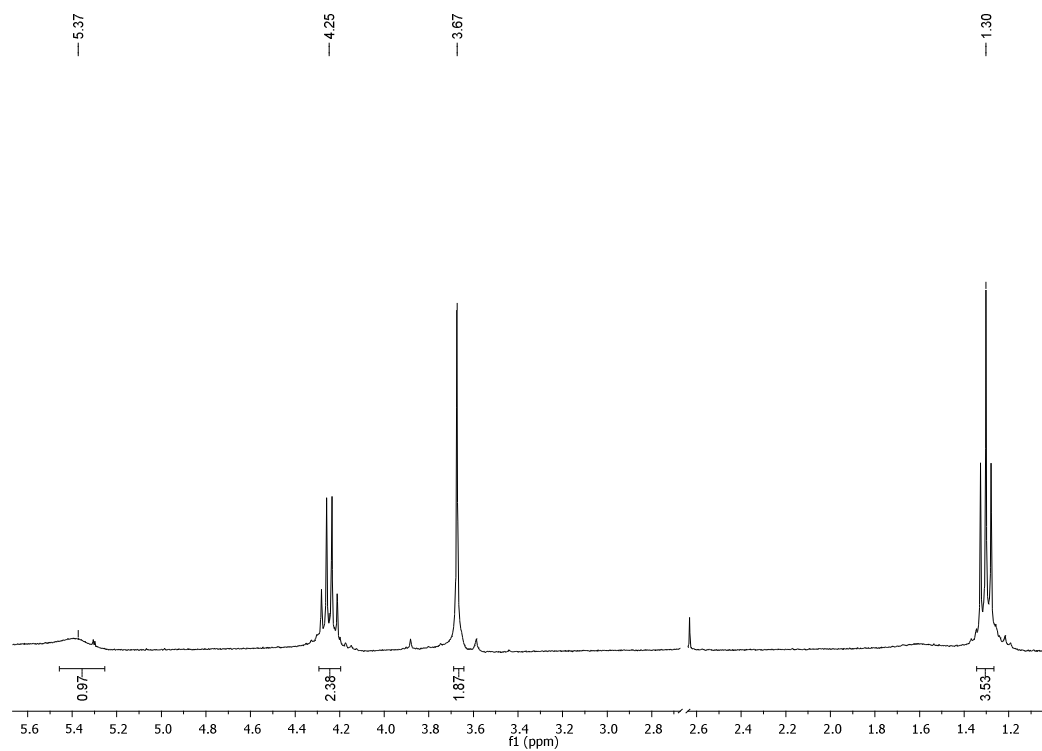
145.7, 138.9, 138.3, 137.8, 137.5, 137.1, 128.7, 128.6, 128.4, 128.3, 128.2, 128.1, 127.9, 127.8, 127.7, 127.2, 126.0 124.0, 123.9, 114.7, 82.8, 80.8, 78.3, 74.6, 73.4, 72.7, 72.6, 70.3, 69.9, 60.0. Anal. Calc. per  $C_{45}H_{47}NO_6S$ : C, 74.05; H, 6.49; N, 1.92, Trovata: C, 74.25; H, 6.51; N, 1.95.

## 6.2 Spettri NMR

Spettro  $^1\text{H}$  NMR del composto **2**

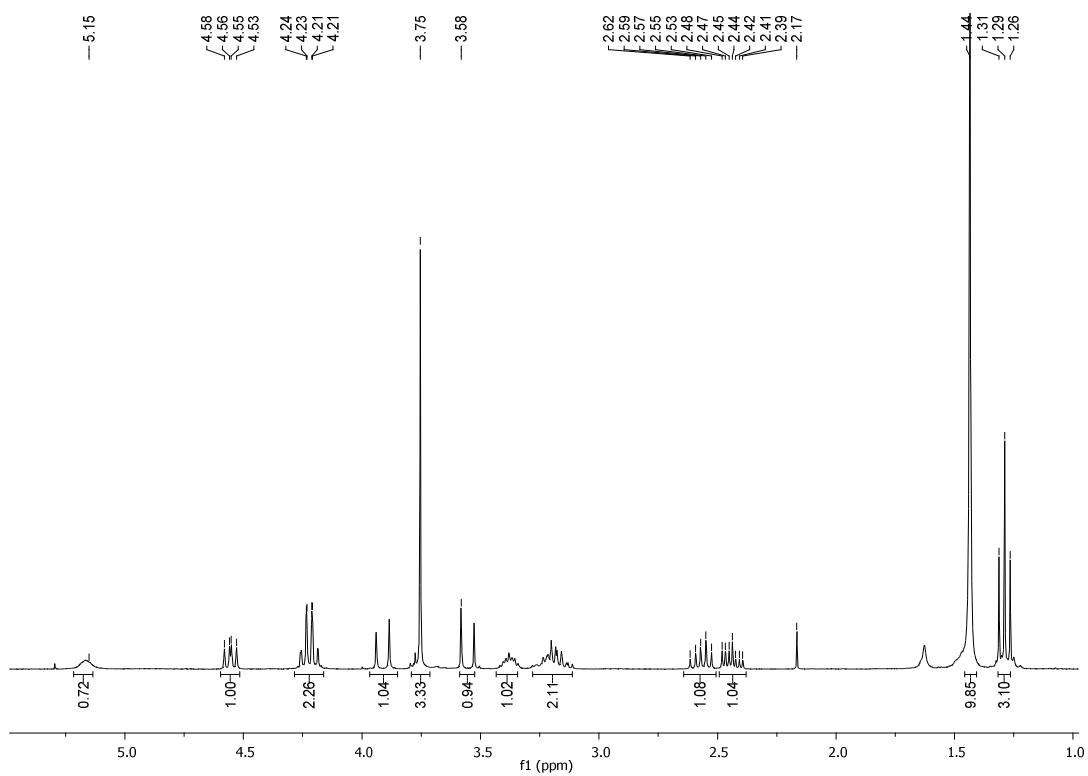


Spettro  $^1\text{H}$  NMR del composto **3**

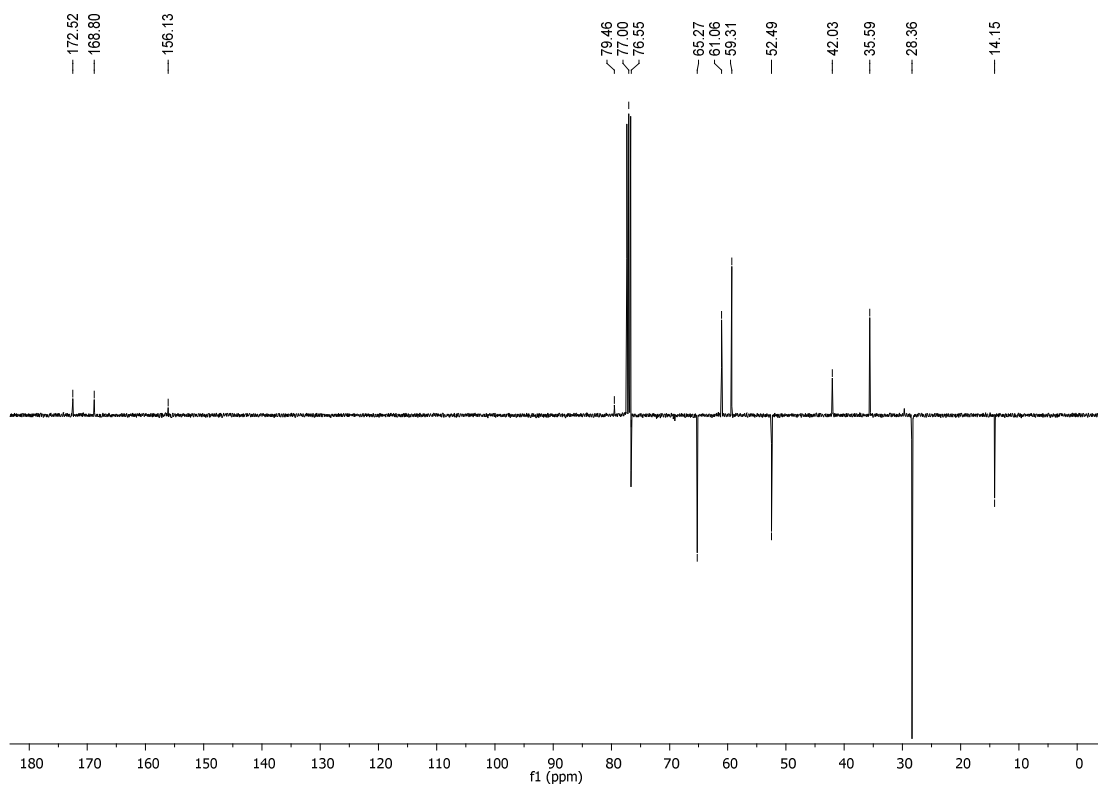




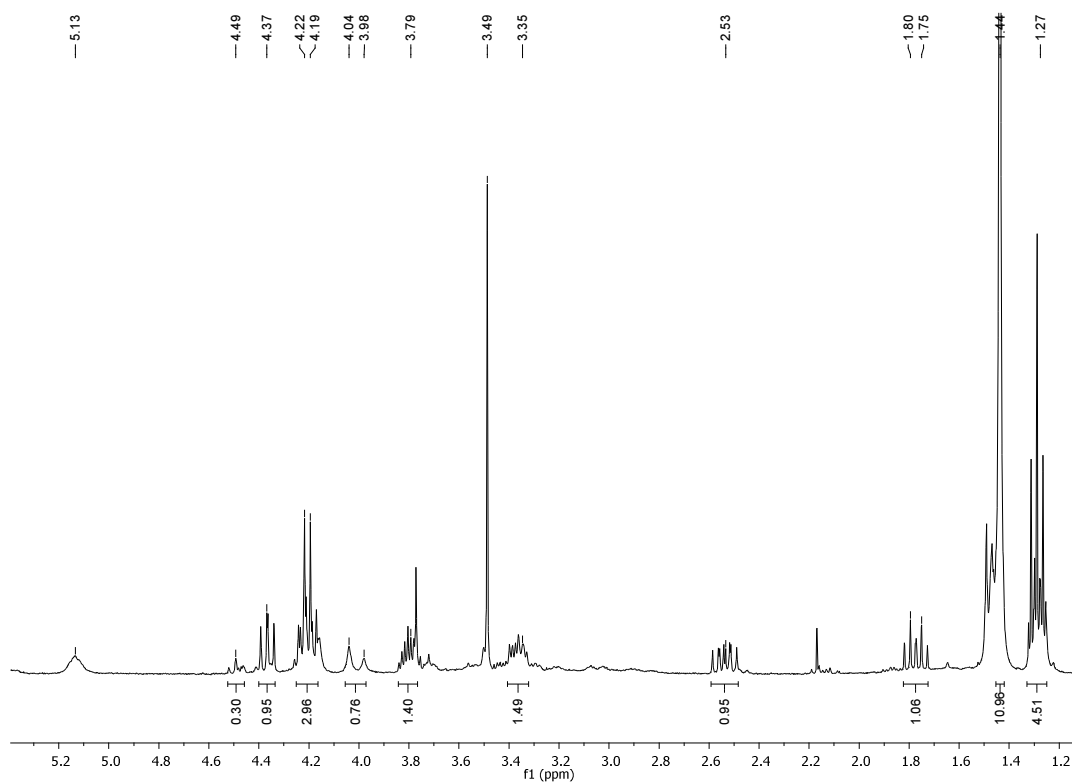
# Spettro $^1\text{H}$ NMR del composto **5**



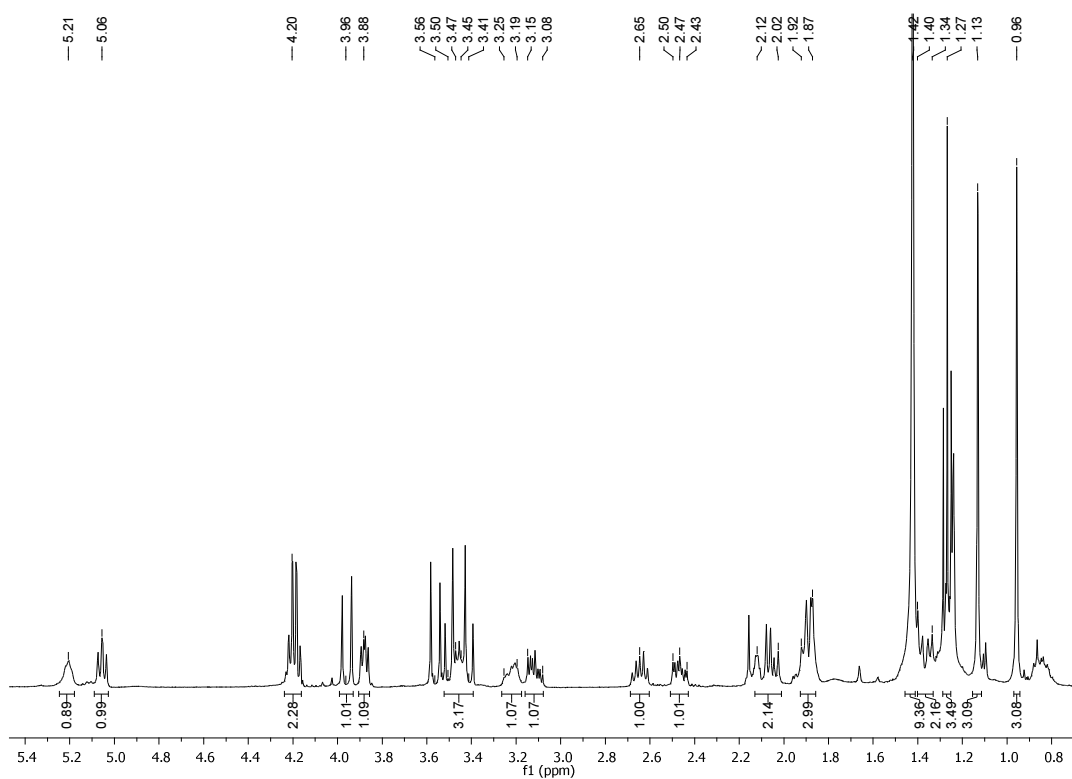
# Spettro $^{13}\text{C}$ NMR del composto **5**



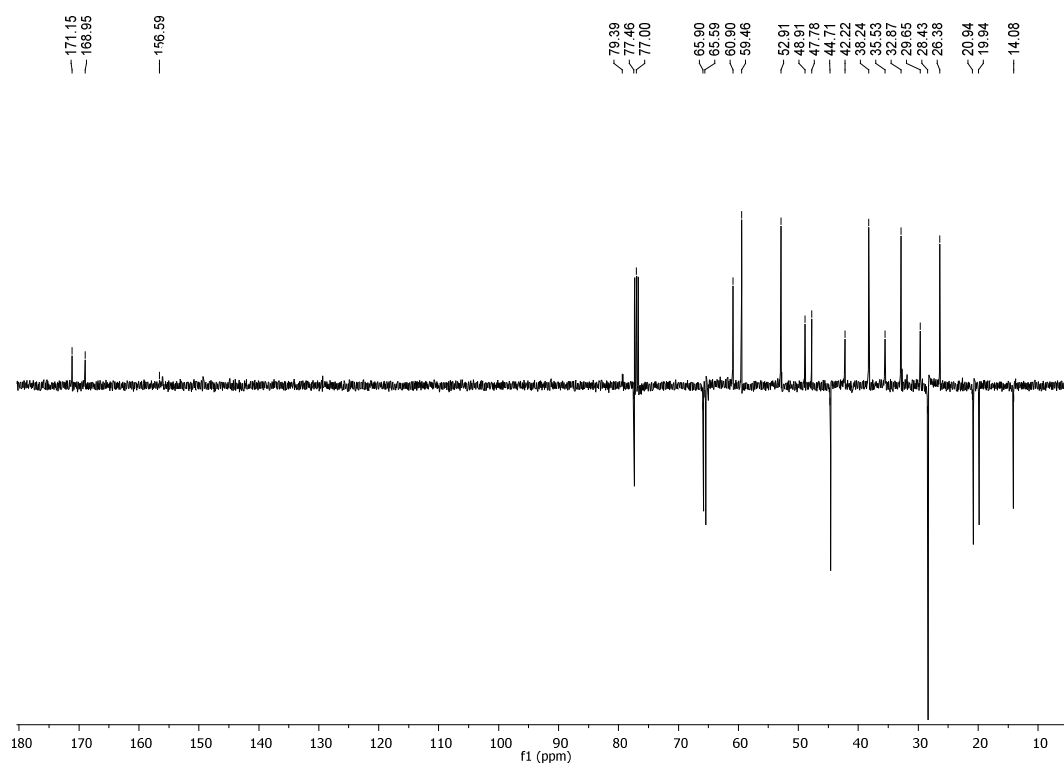
# Spettro $^1\text{H}$ NMR del composto **7**



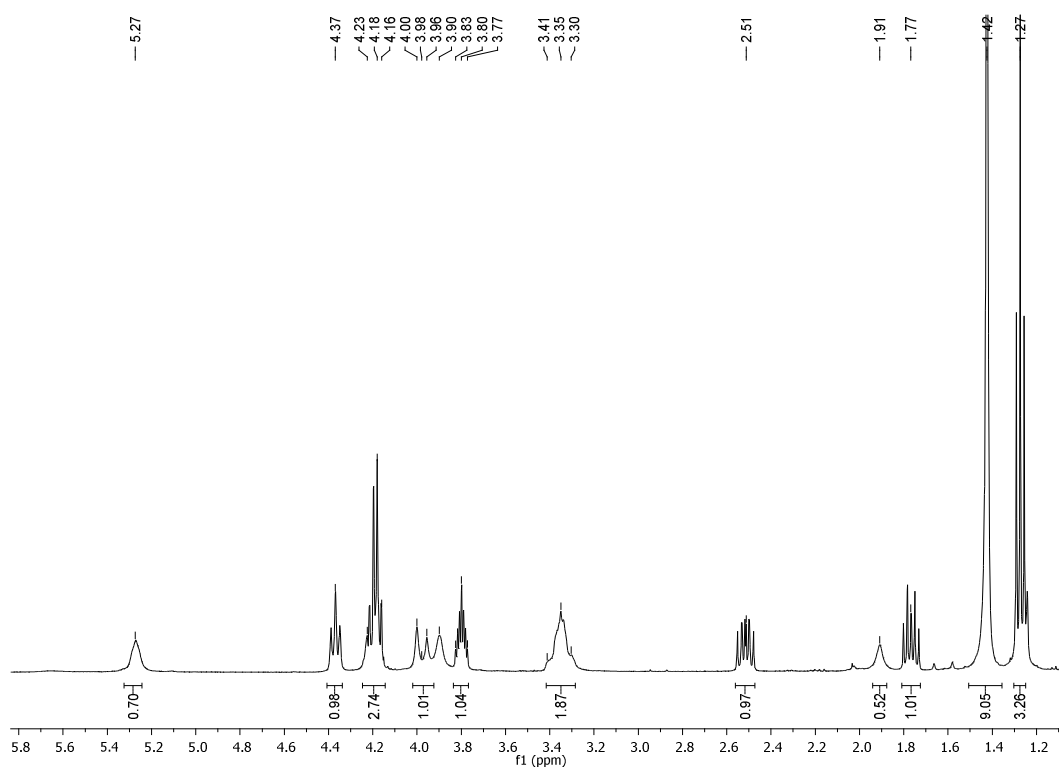
# Spettro $^1\text{H}$ NMR del composto **11**



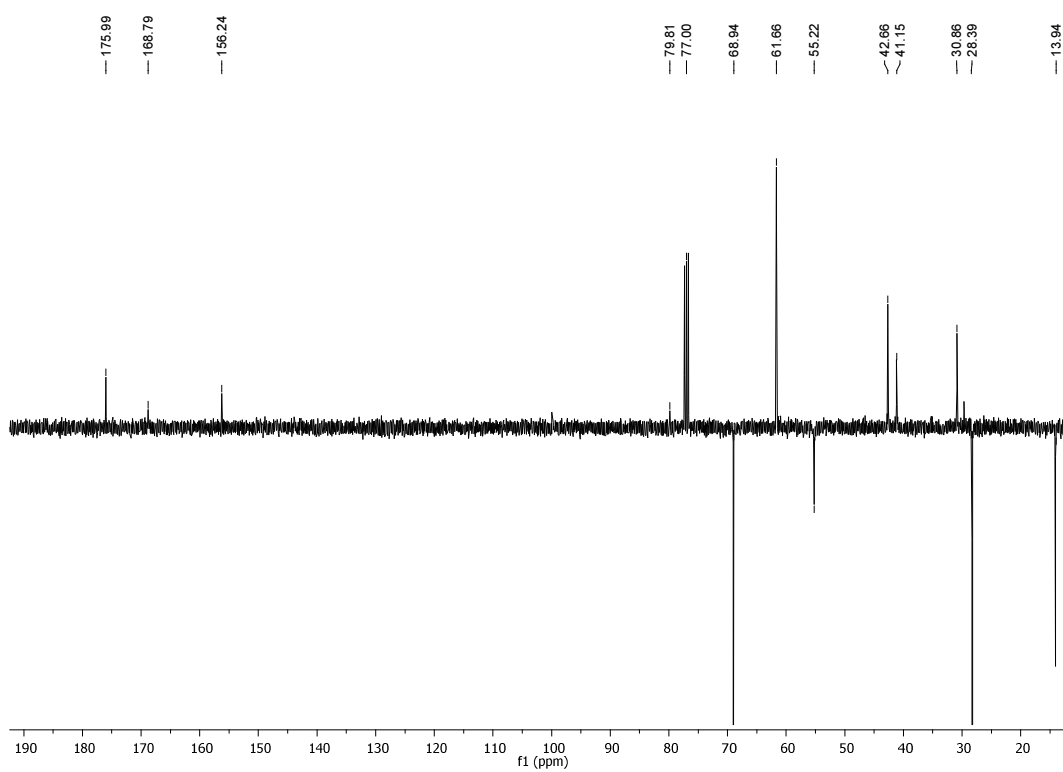
# Spettro $^{13}\text{C}$ NMR del composto **11**



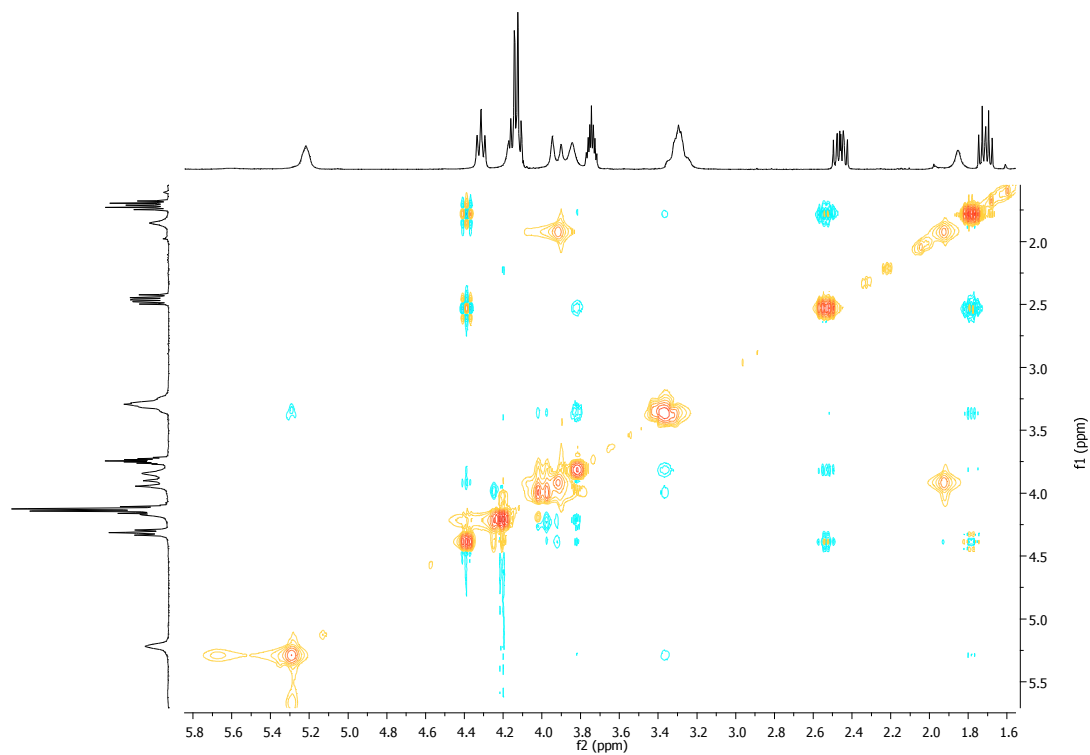
# Spettro $^1\text{H}$ NMR del composto **12**



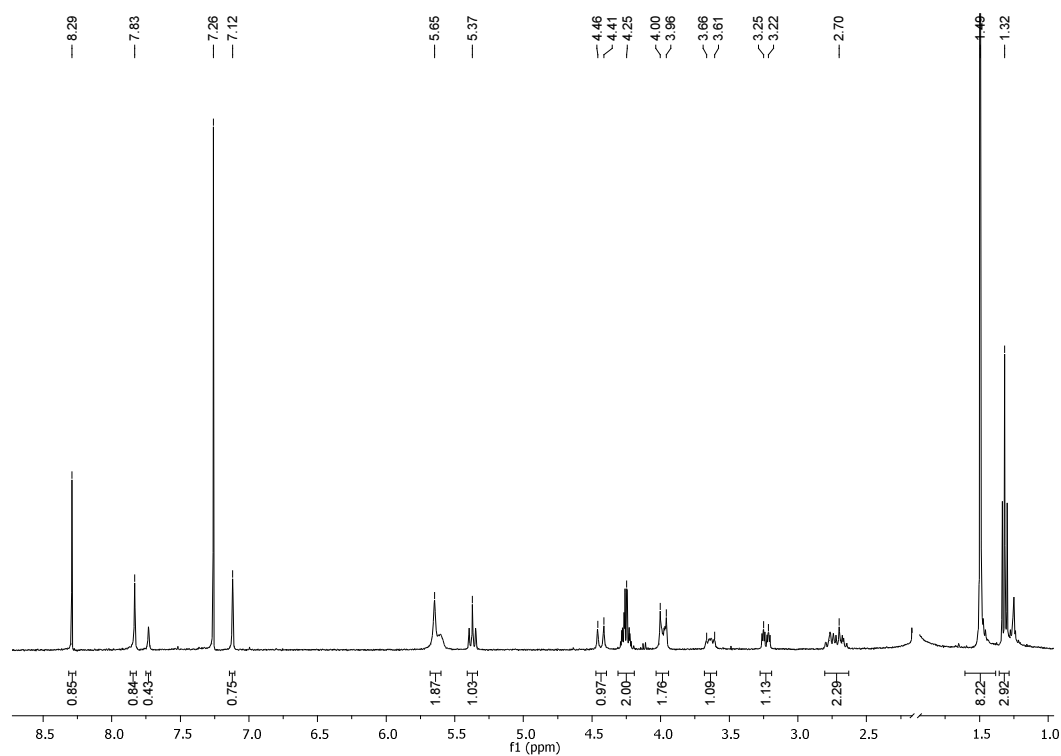
# Spettro $^{13}\text{C}$ NMR del composto **12**



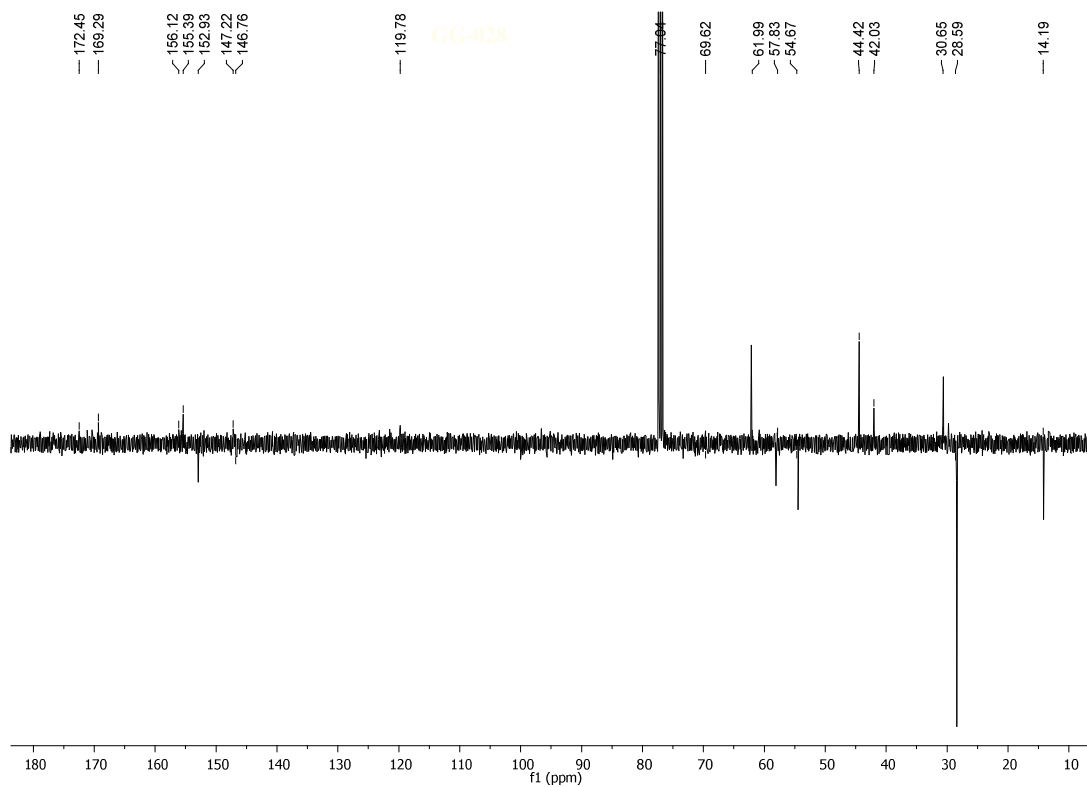
# Spettro 2D-NOESY del composto **12**



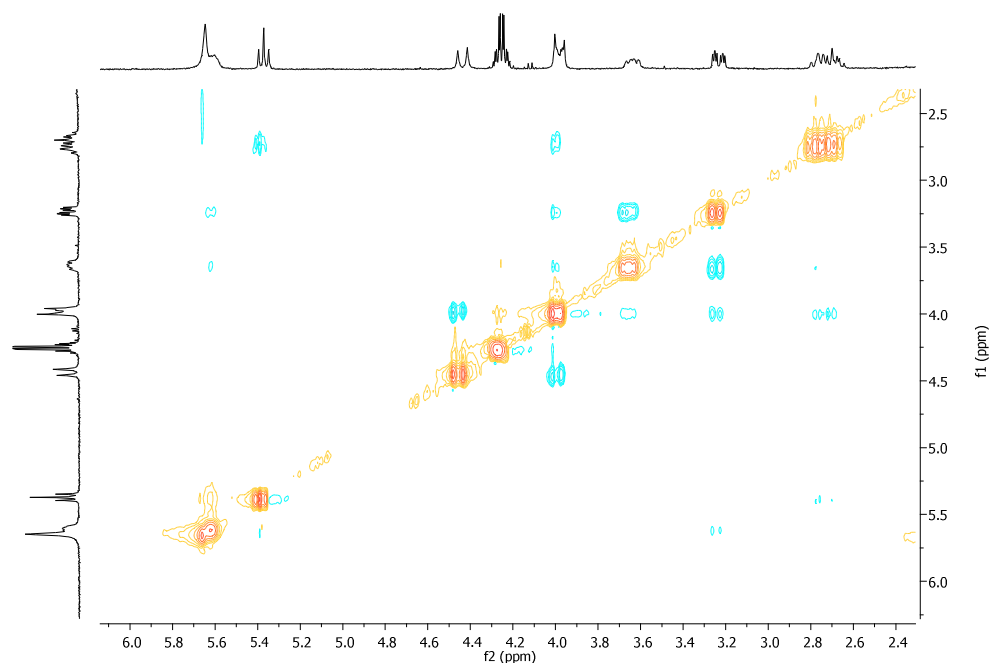
### Spettro $^1\text{H}$ NMR del composto **13**



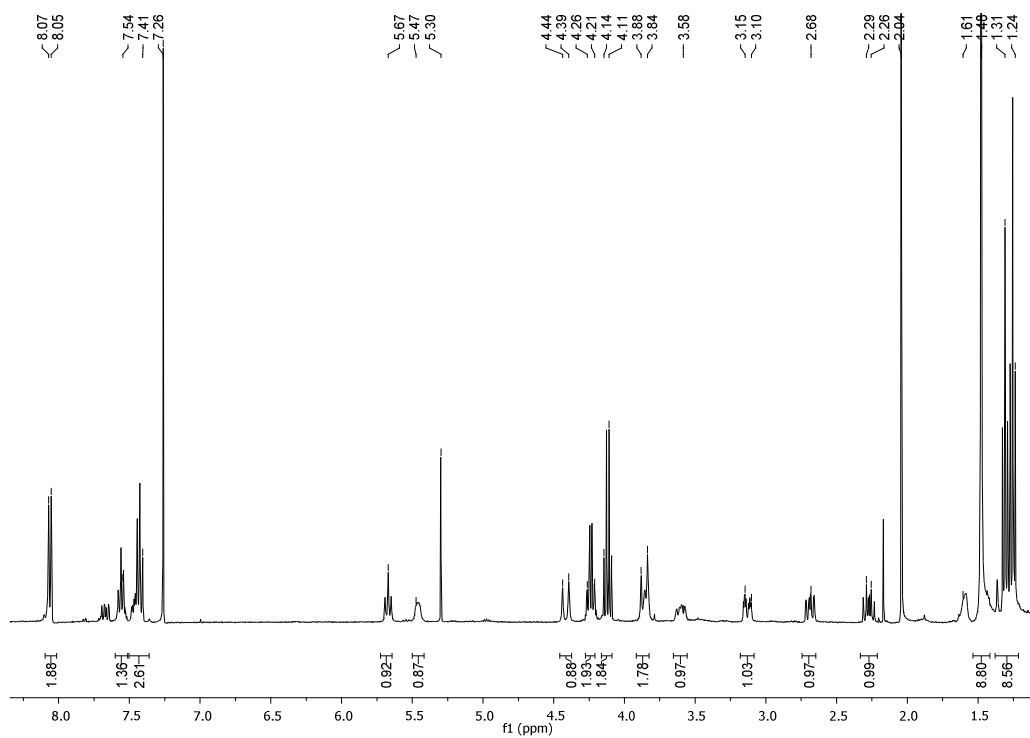
### Spettro $^{13}\text{C}$ NMR del composto **13**



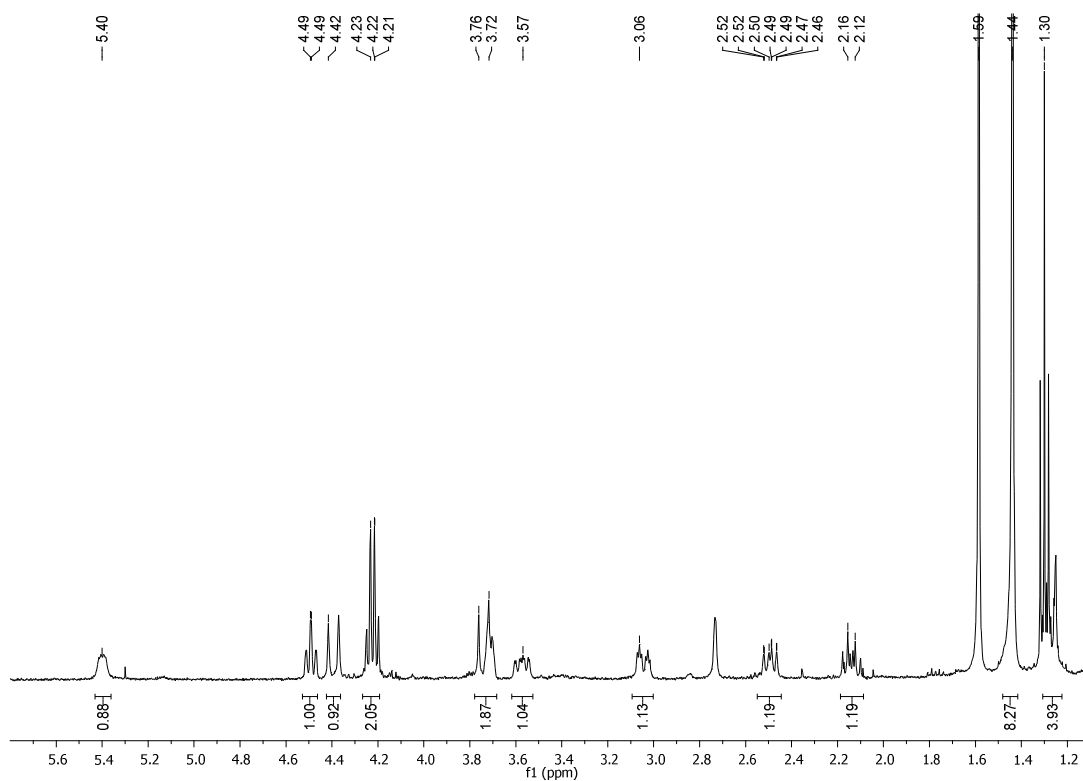
### Spettro 2D-NOESY del composto **13**



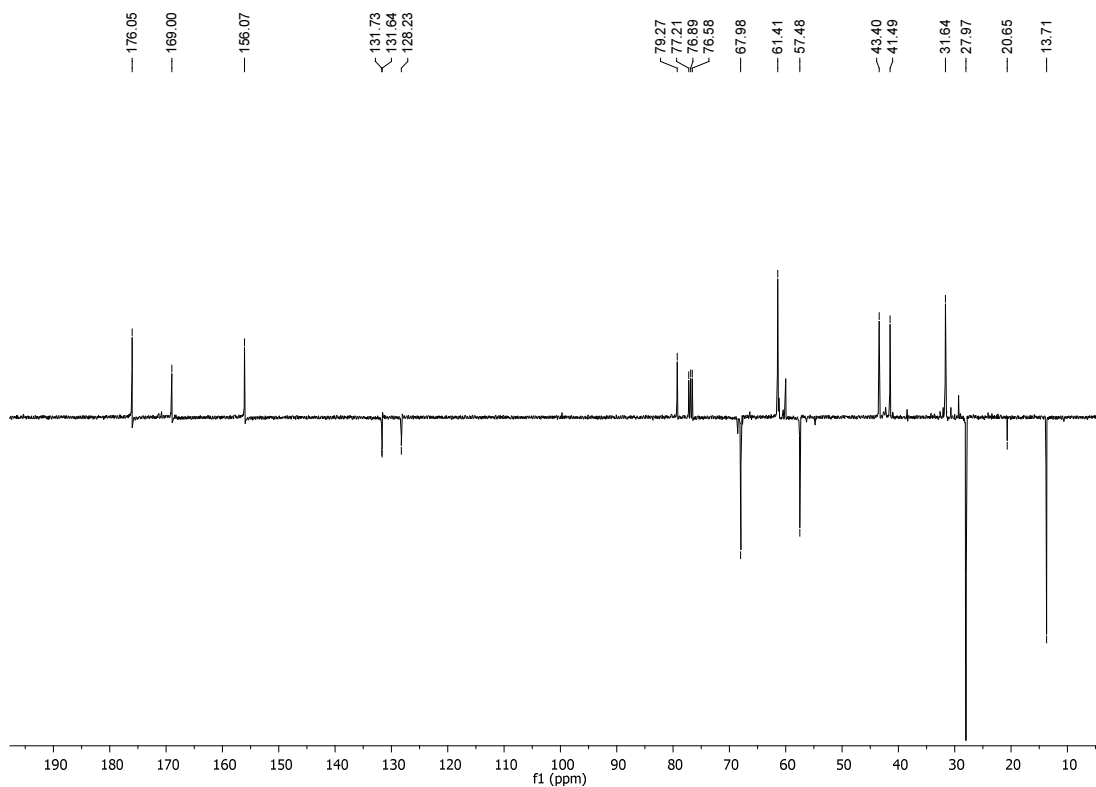
### Spettro $^1\text{H}$ NMR del composto **14**



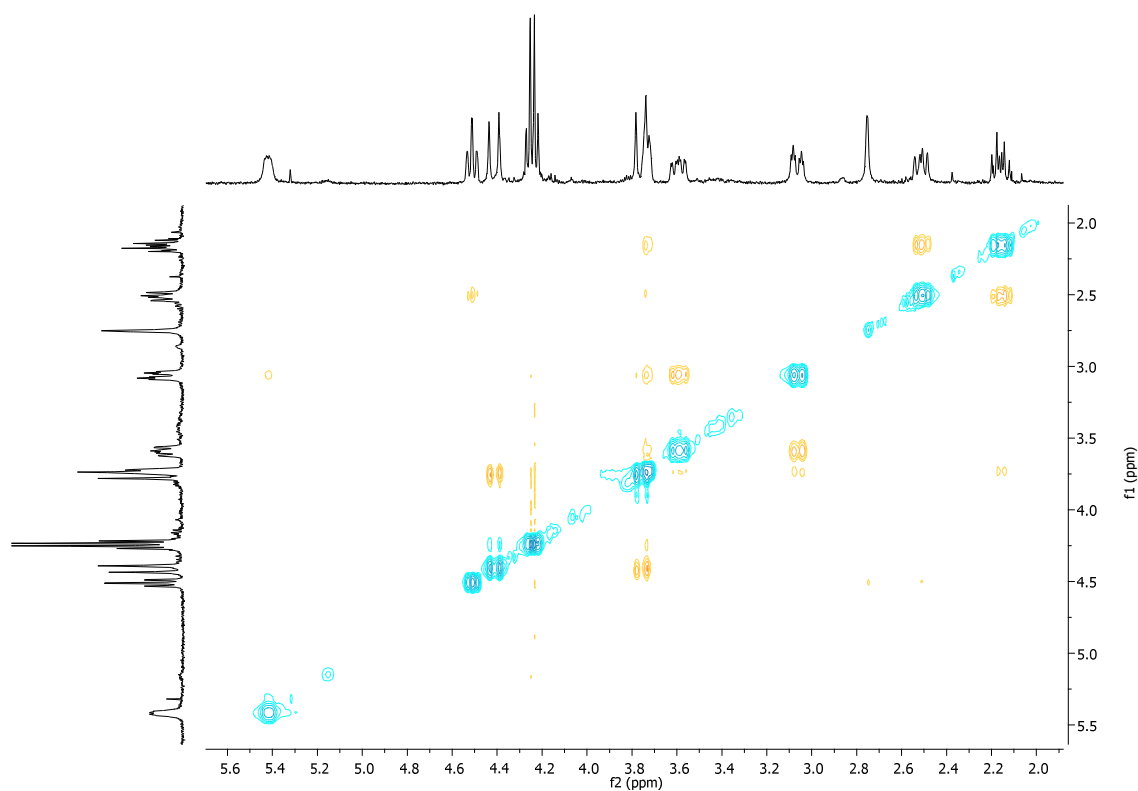
# Spettro $^1\text{H}$ NMR del composto **15**



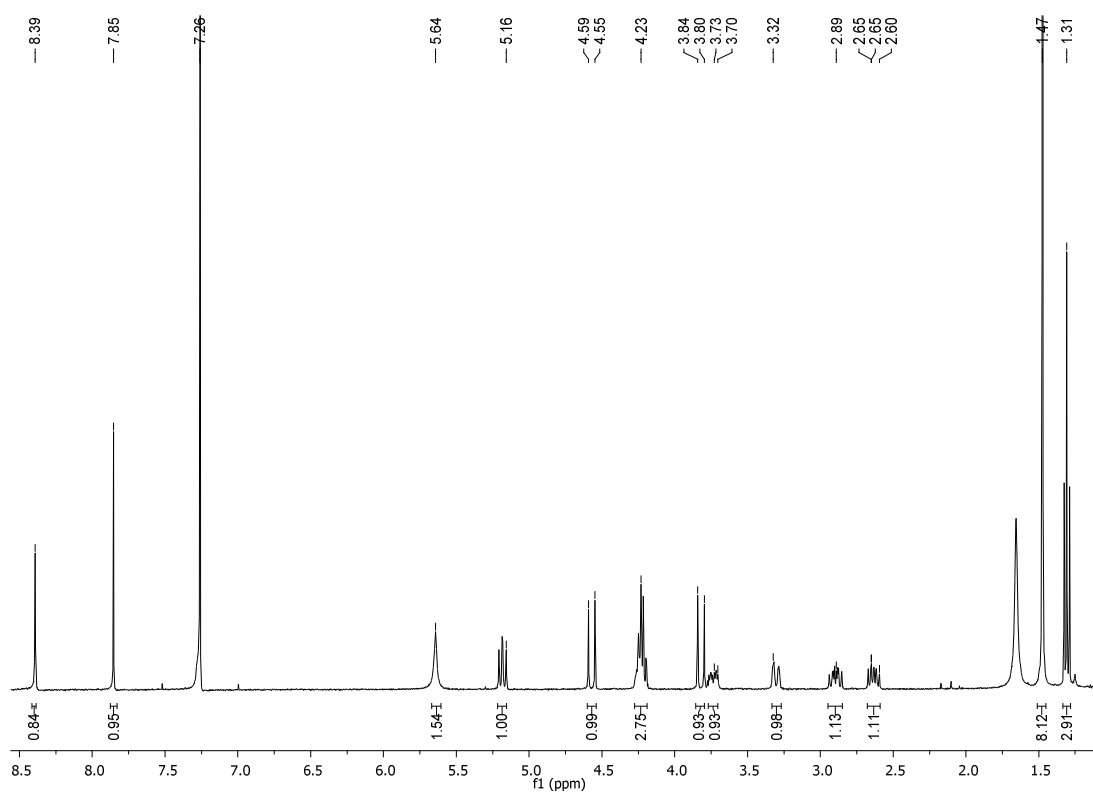
# Spettro $^{13}\text{C}$ NMR del composto **15**



Spettro 2D-NOESY del composto **15**

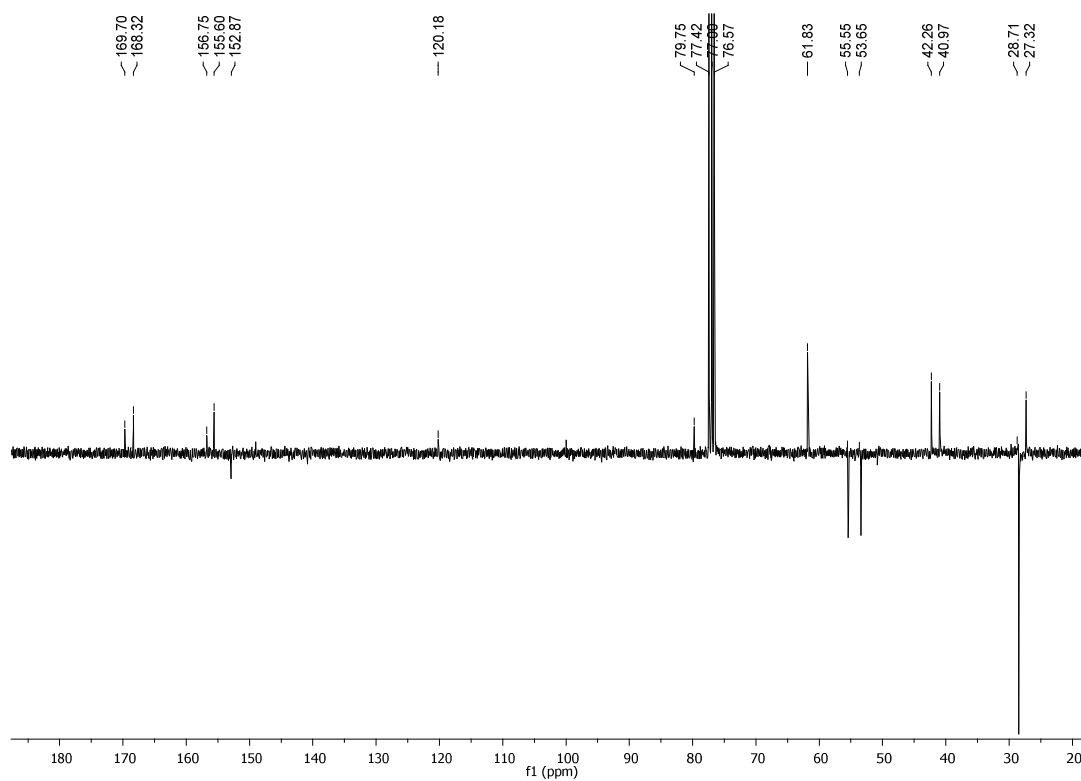


Spettro  $^1\text{H}$  NMR del composto **16**

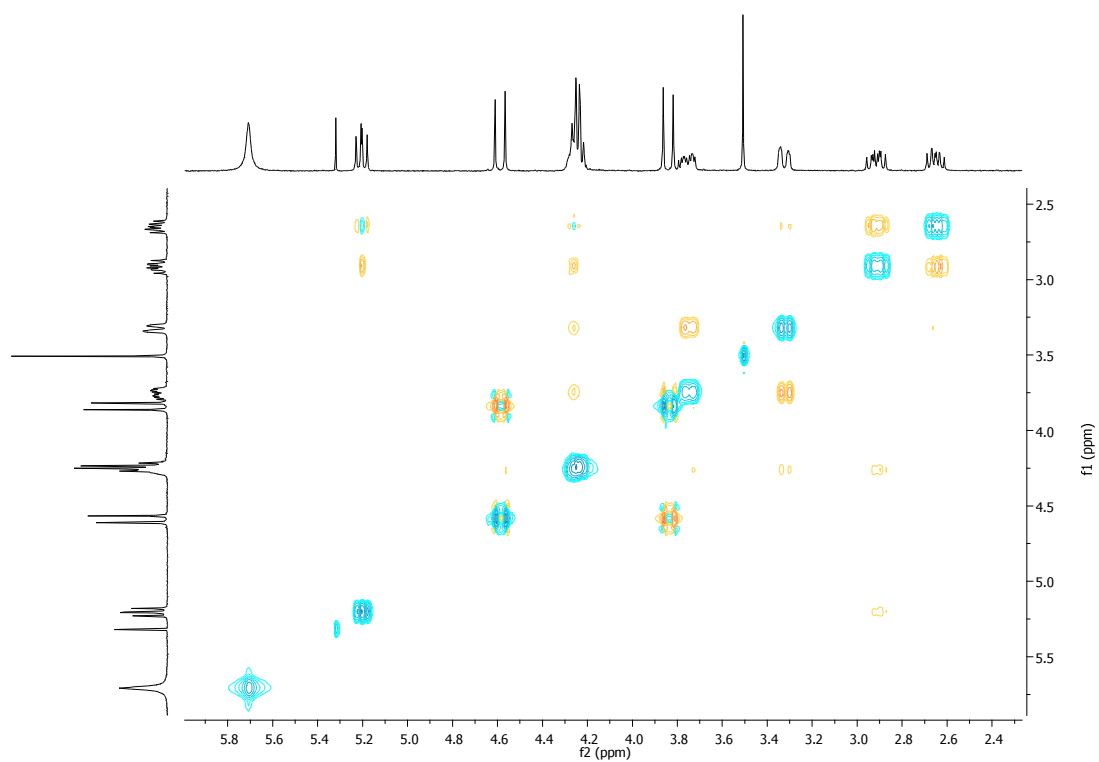




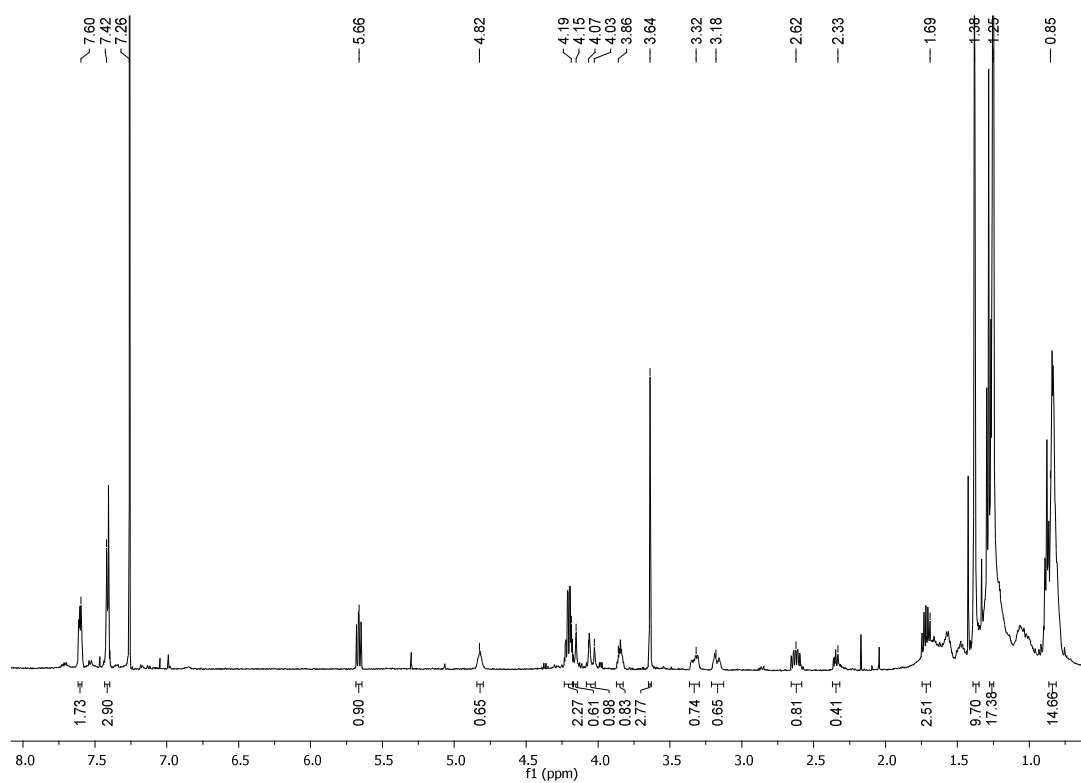
# Spettro $^{13}\text{C}$ NMR del composto **16**



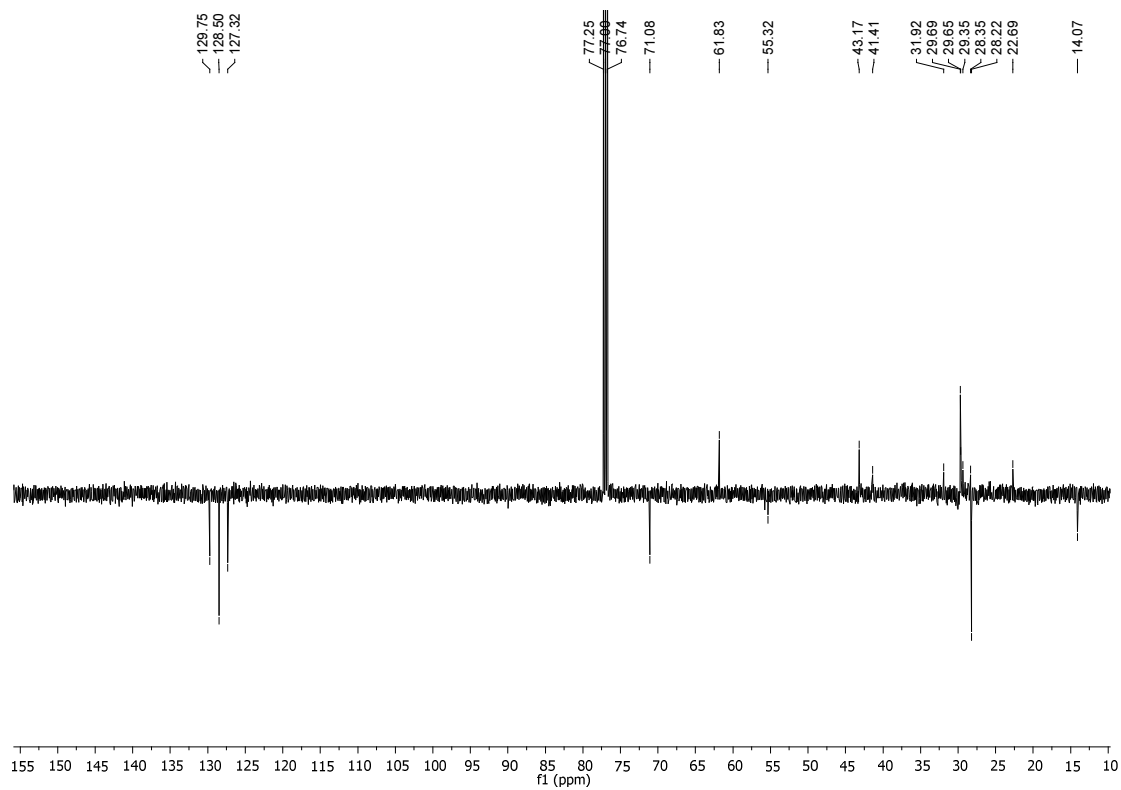
# Spettro 2D-NOESY del composto **16**



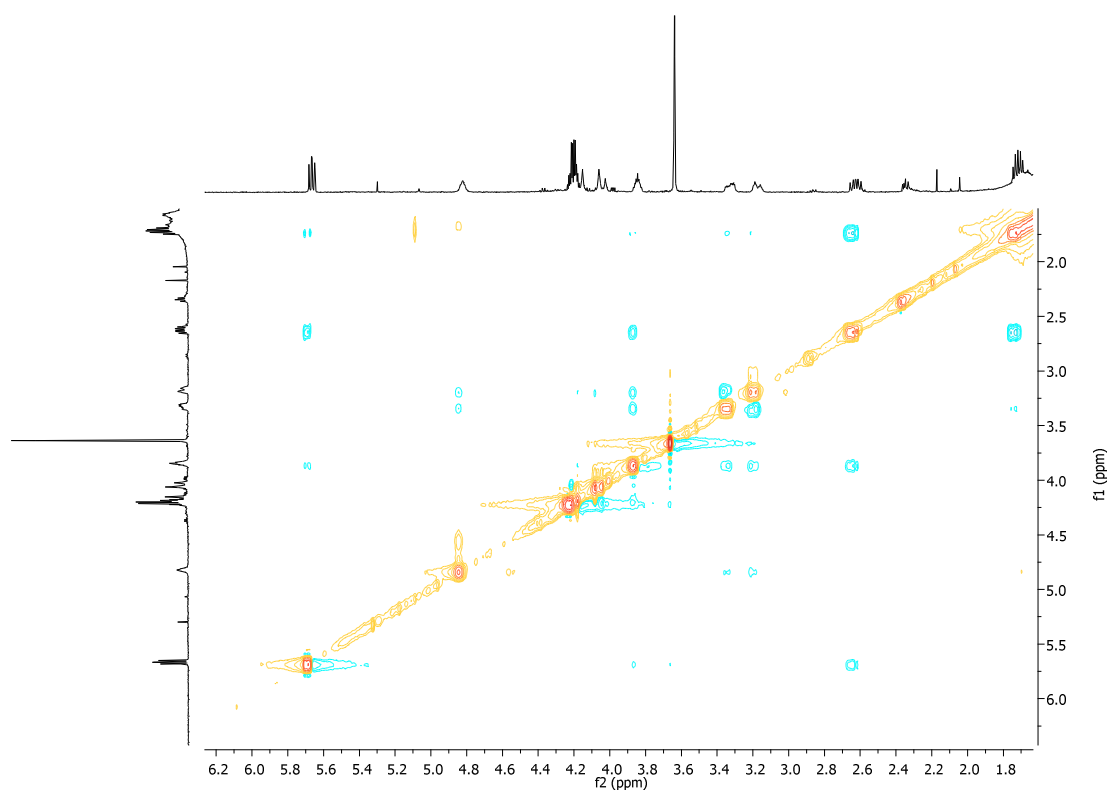
# Spettro $^1\text{H}$ NMR del composto **17a**



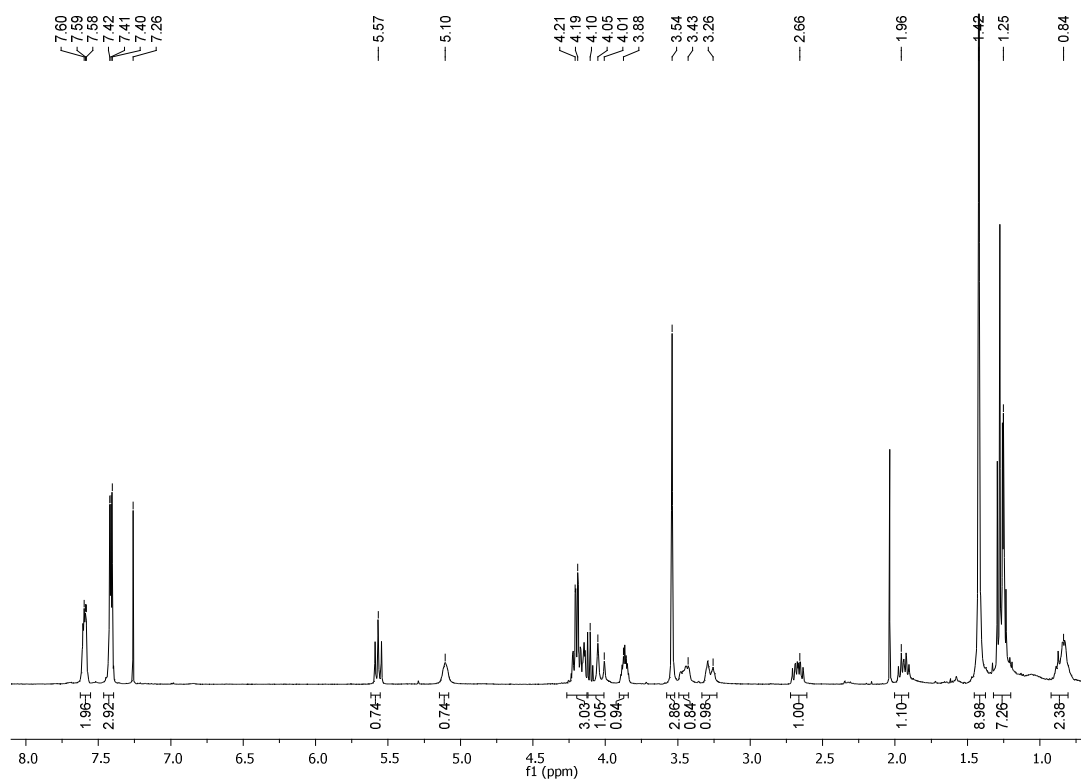
# Spettro $^{13}\text{C}$ NMR del composto **17a**



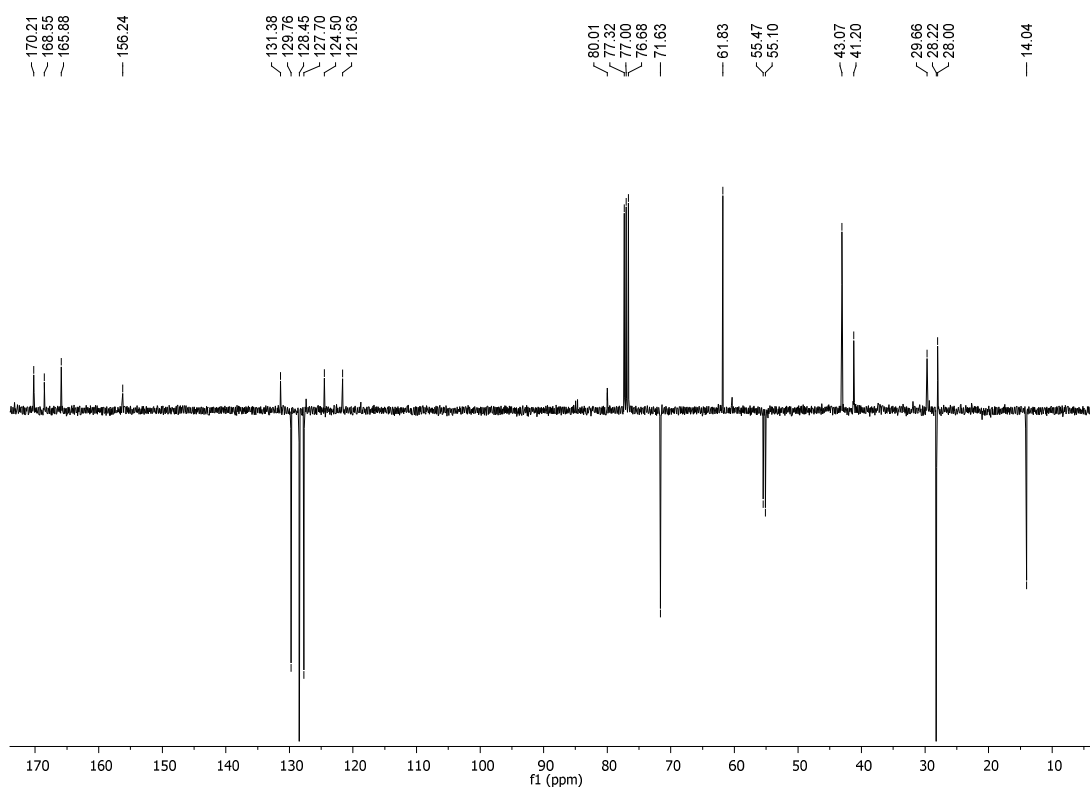
Spettro 2D-NOESY del composto **17a**



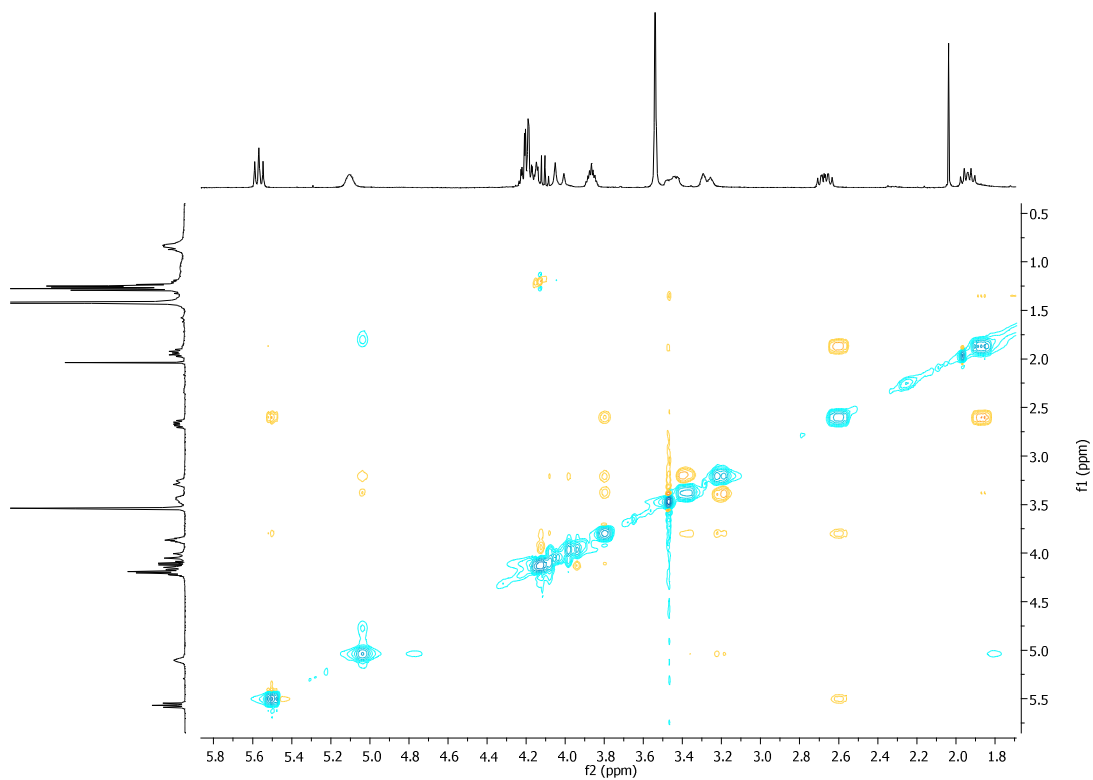
Spettro  $^1\text{H}$  NMR del composto **17b**



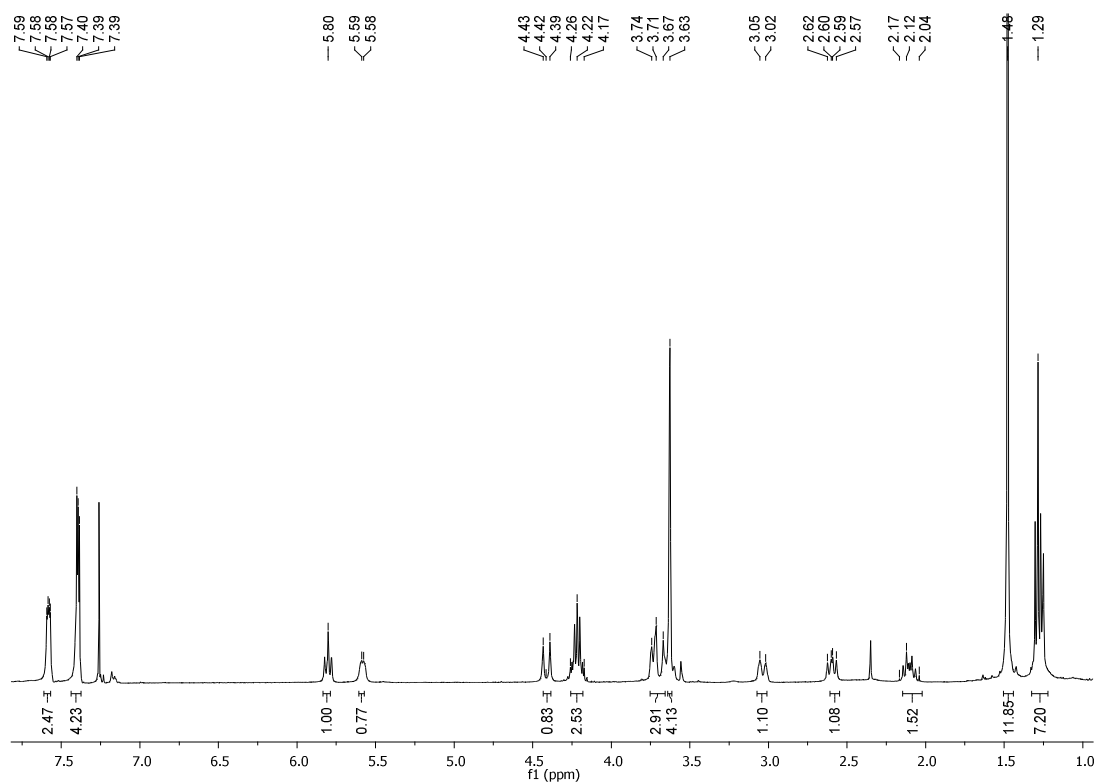
### Spettro $^{13}\text{C}$ NMR del composto **17b**



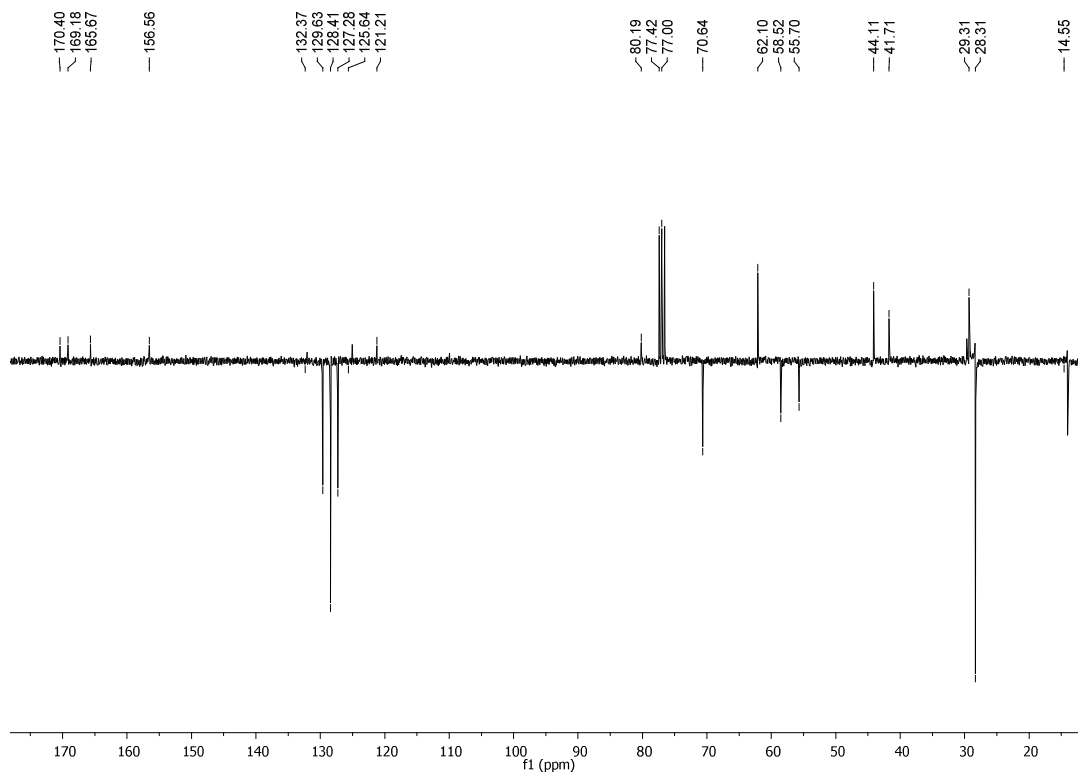
### Spettro 2D-NOESY del composto **17b**



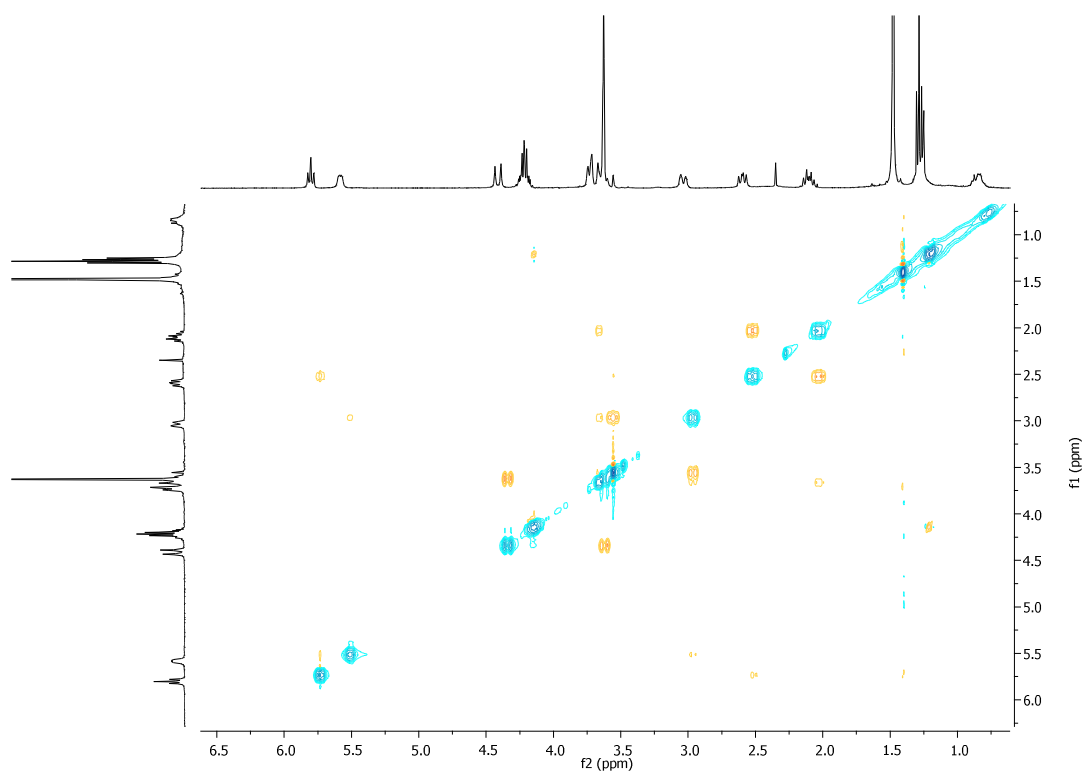
# Spettro $^1\text{H}$ NMR del composto **18a**



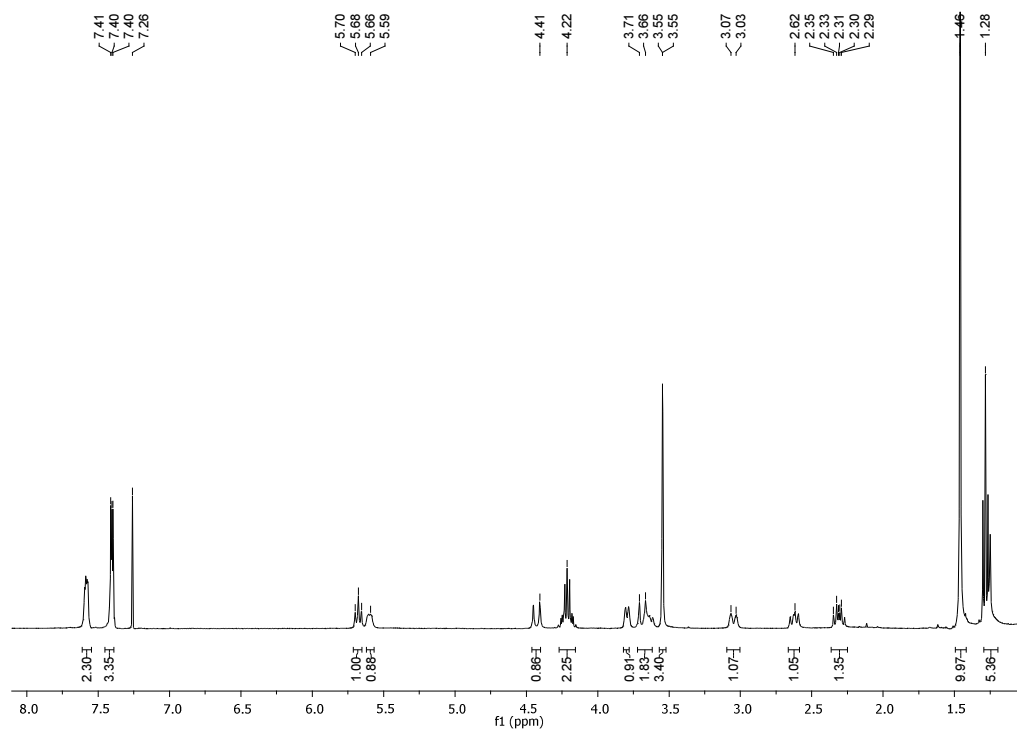
# Spettro $^{13}\text{C}$ NMR del composto **18a**



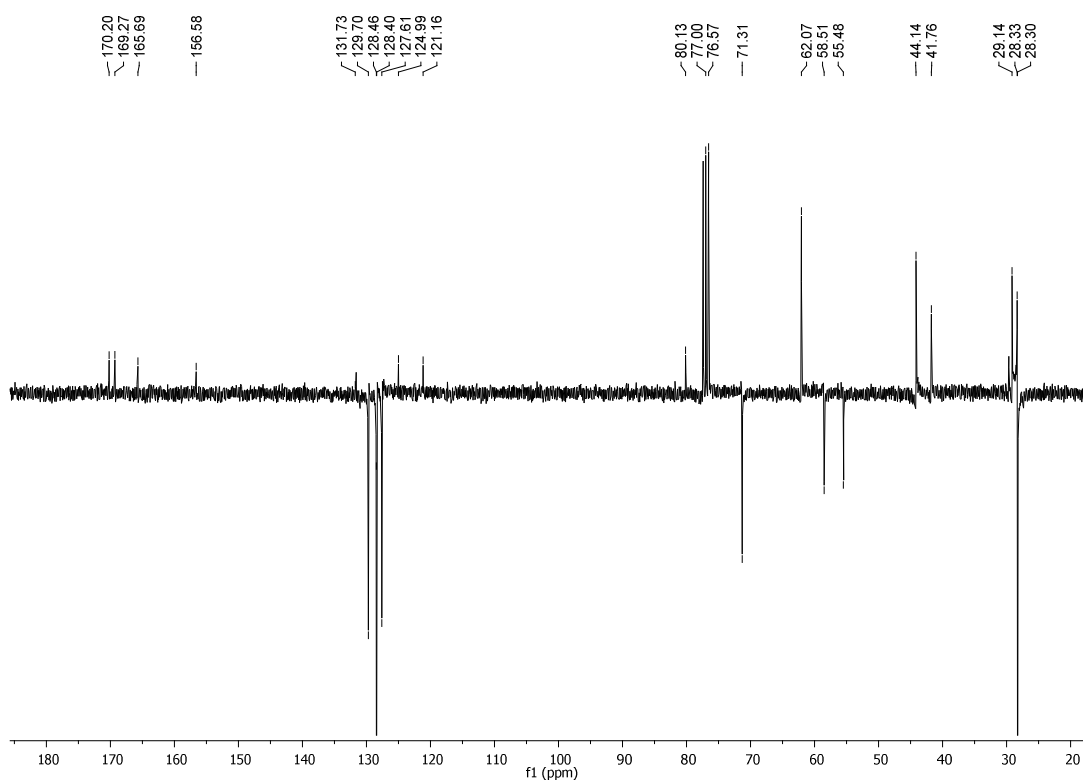
Spettro 2D-NOESY del composto **18a**



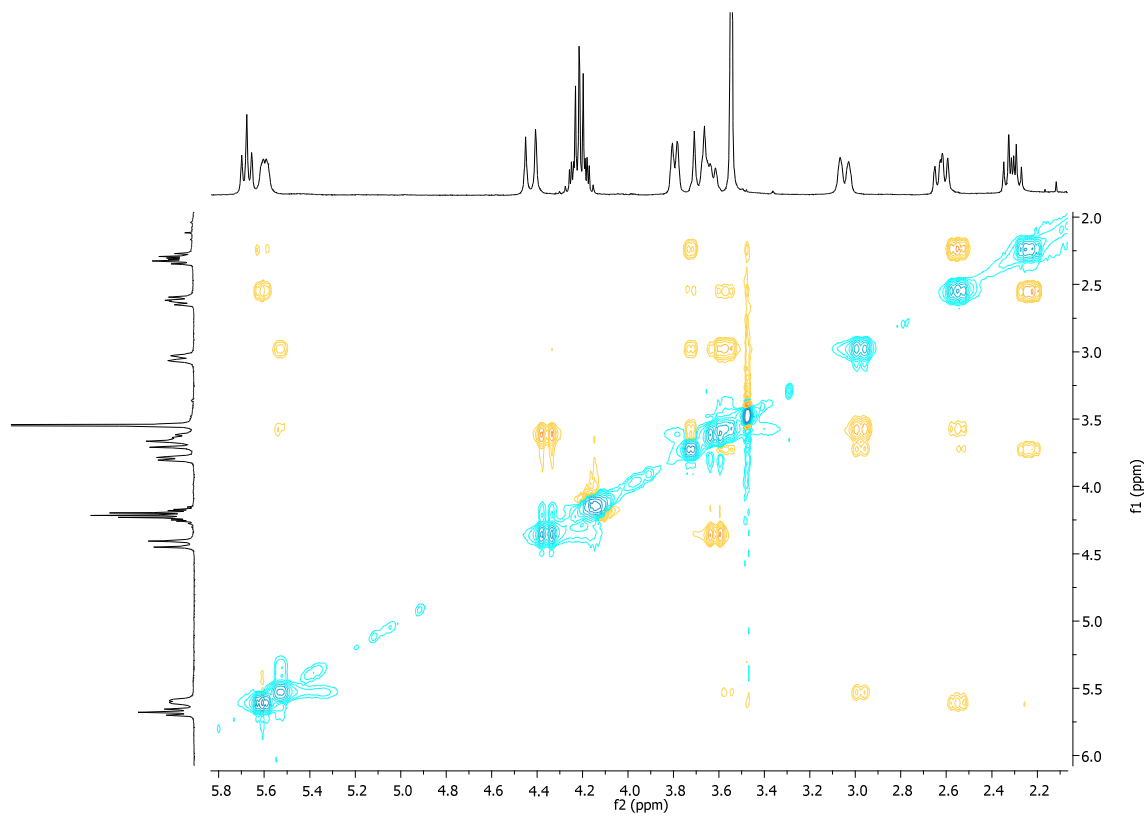
Spettro  $^1\text{H}$  NMR del composto **18b**



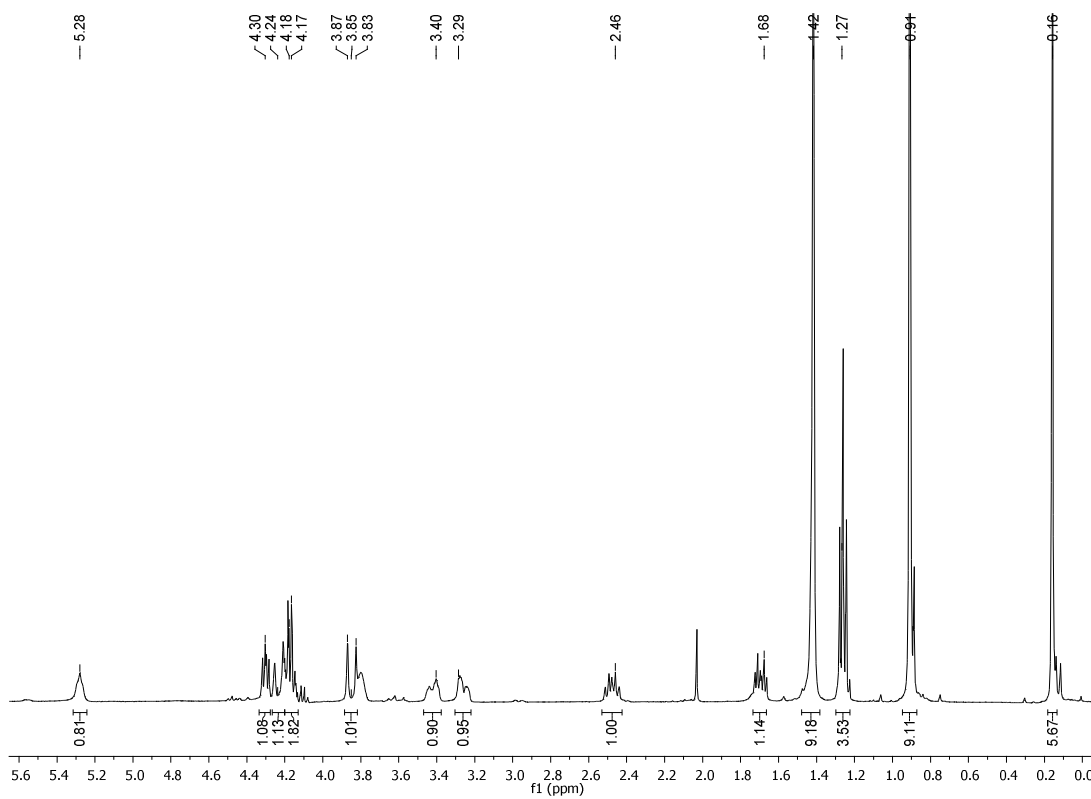
### Spettro $^{13}\text{C}$ NMR del composto **18b**



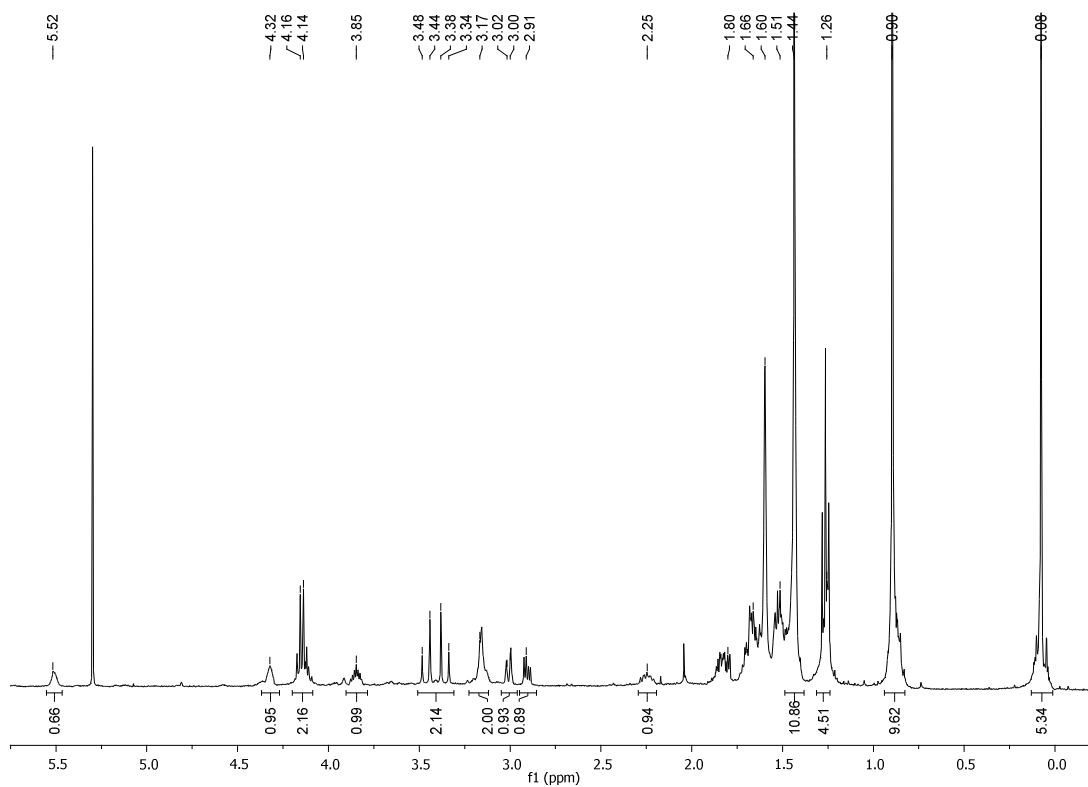
### Spettro 2D-NOESY del composto **18b**



### Spettro $^1\text{H}$ NMR del composto **19**



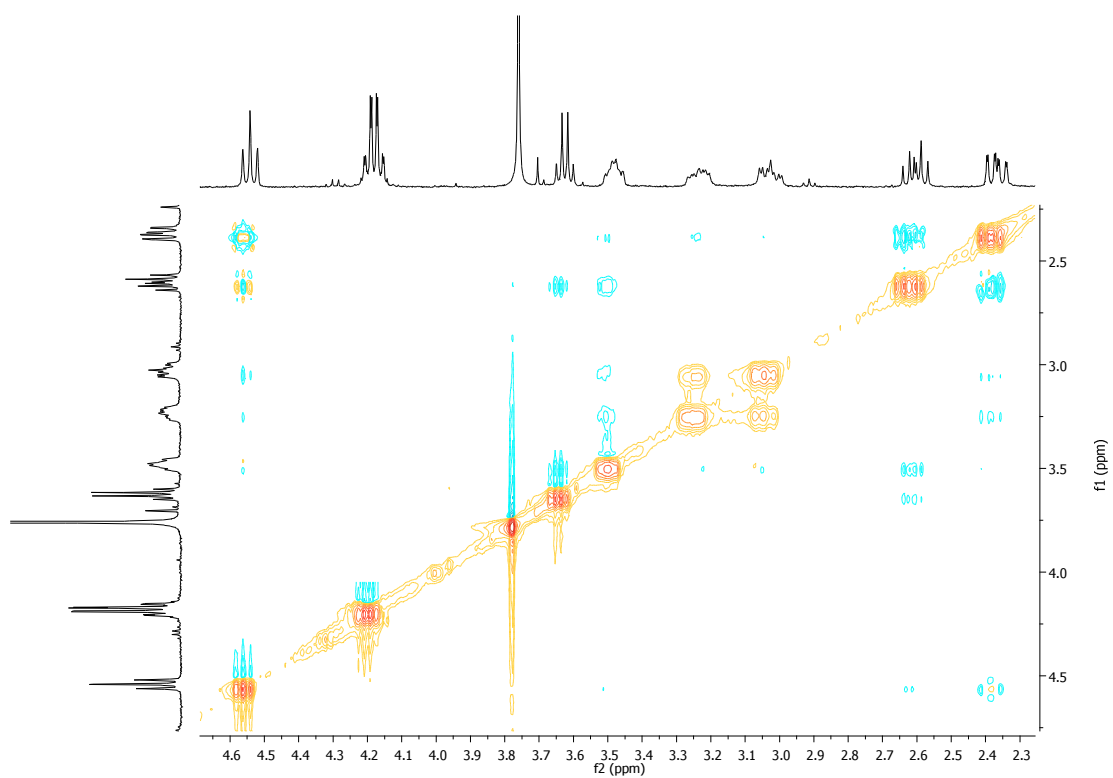
### Spettro $^1\text{H}$ NMR del composto **20**



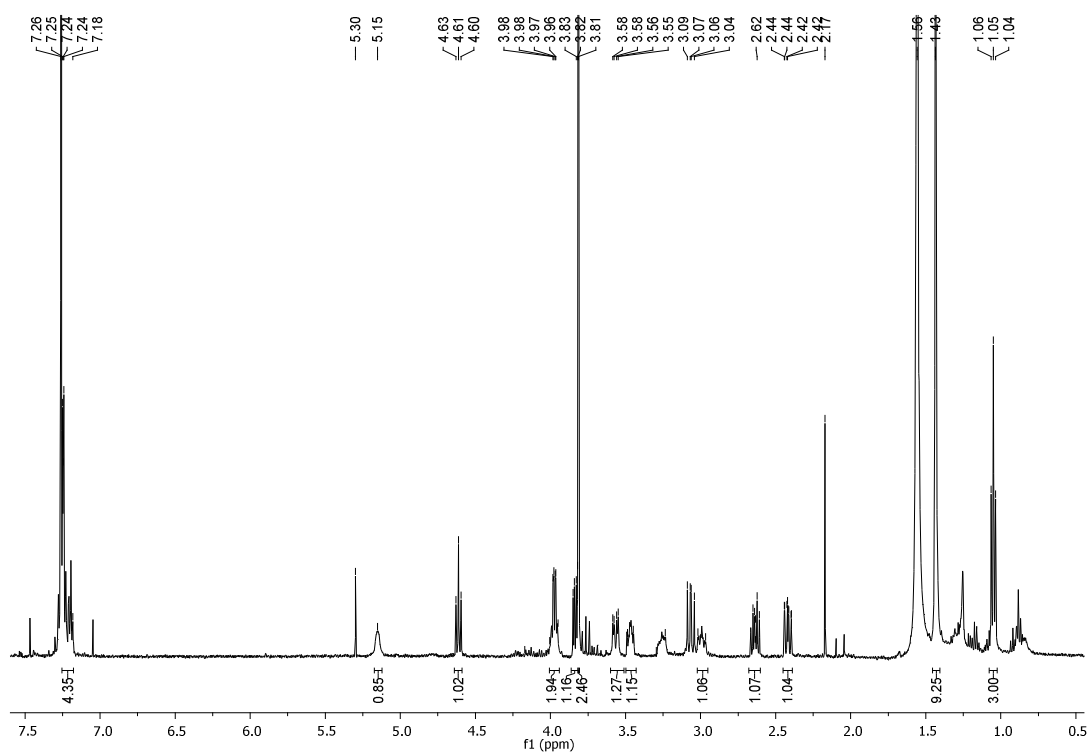




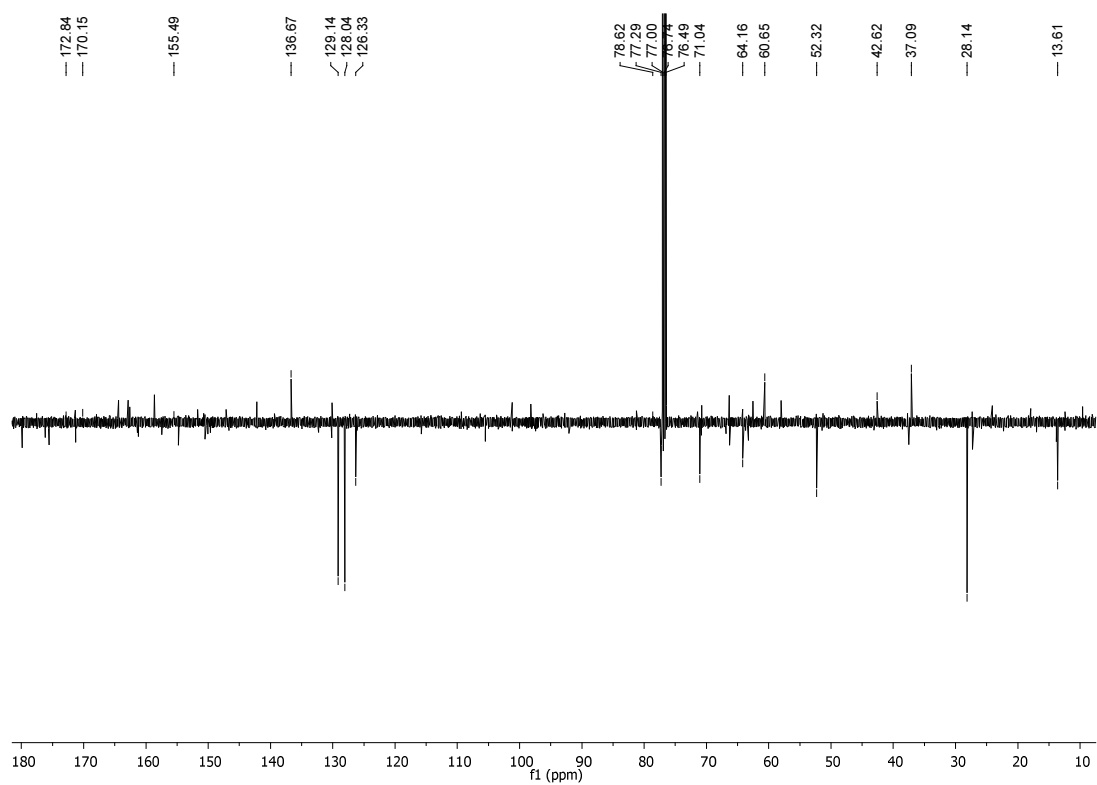
Spettro 2D-NOESY del composto **27a**



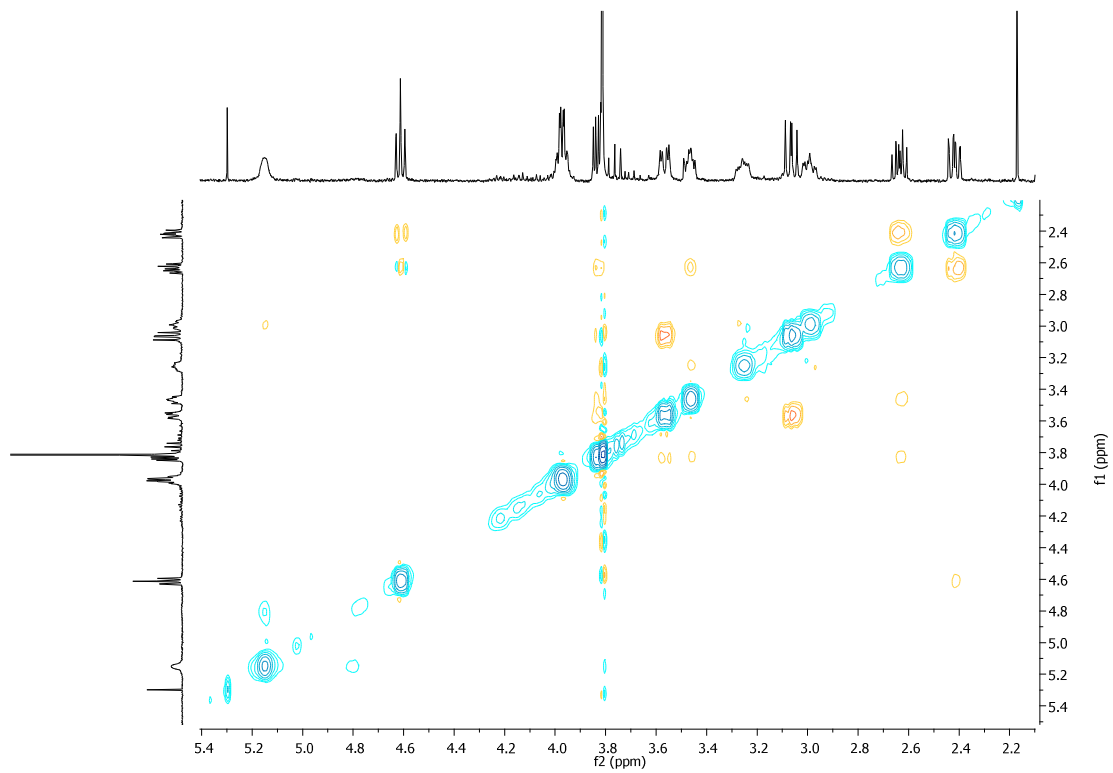
Spettro  $^1\text{H}$  NMR del composto **27b**



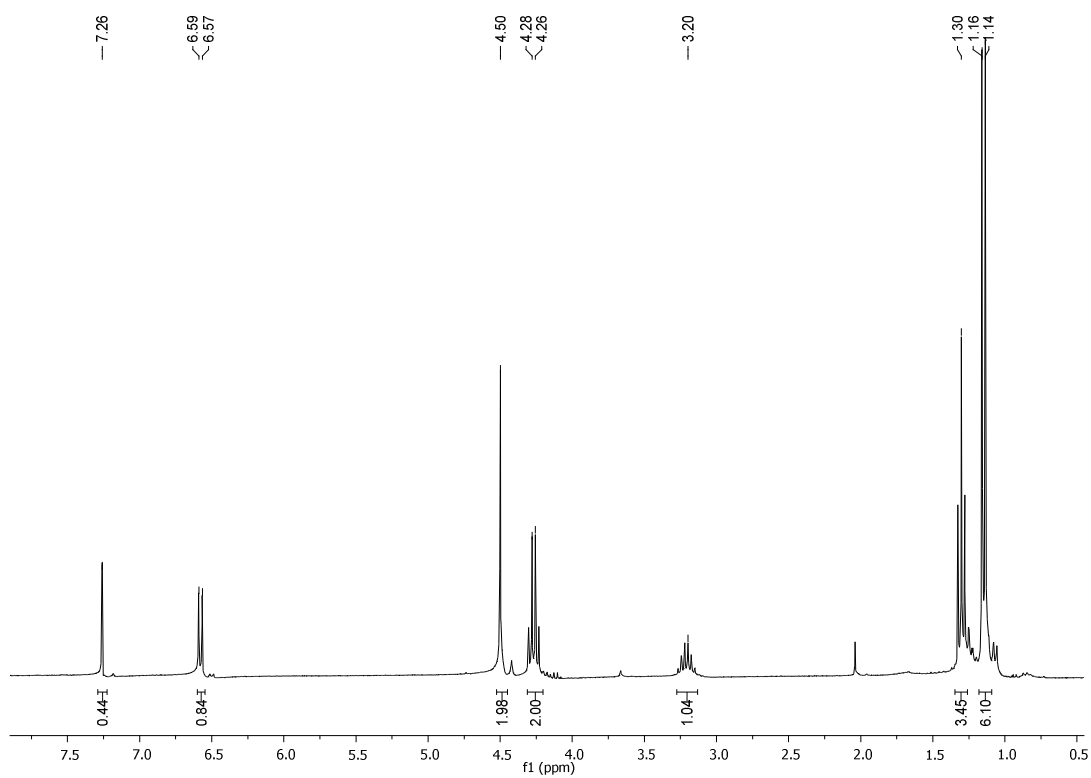
Spettro  $^{13}\text{C}$  NMR del composto **27b**



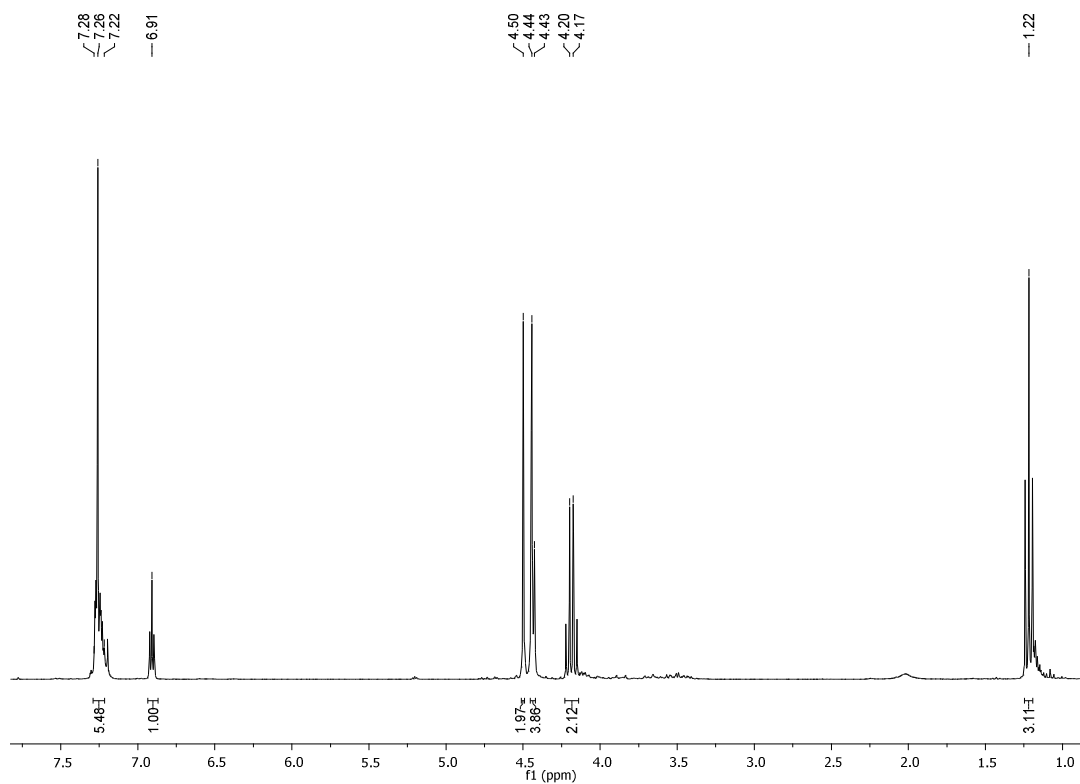
Spettro 2D-NOESY del composto **27b**



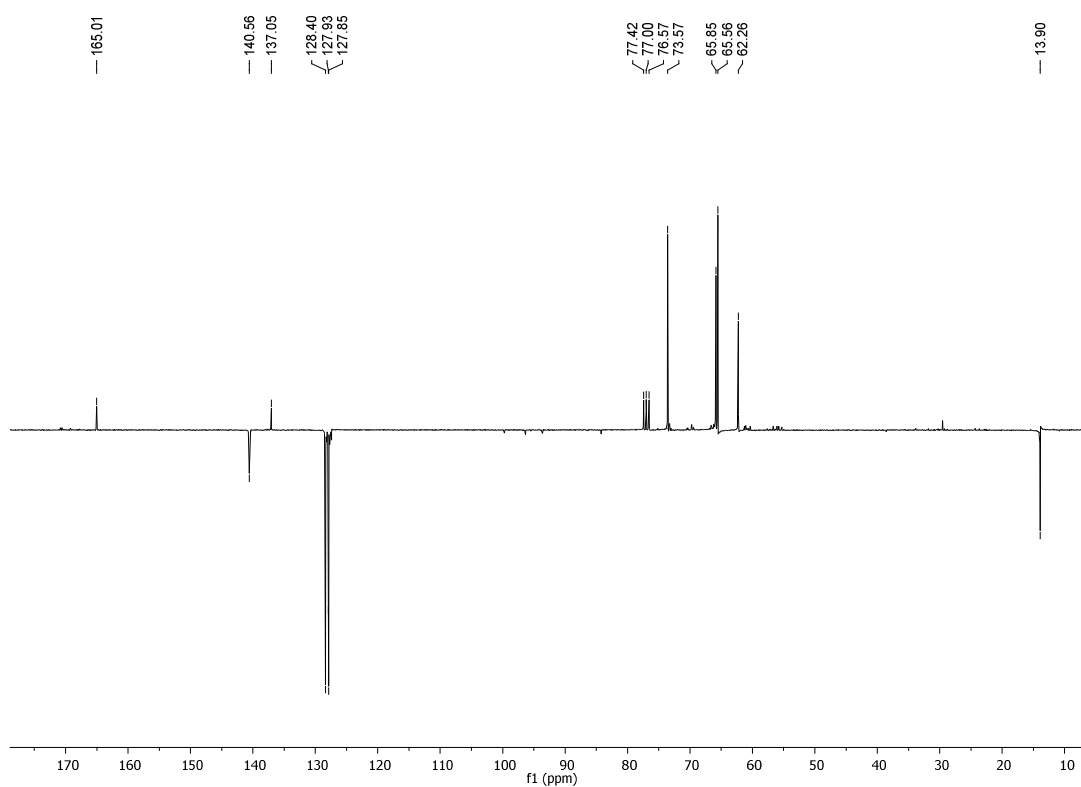
Spettro  $^1\text{H}$  NMR del composto **28a**



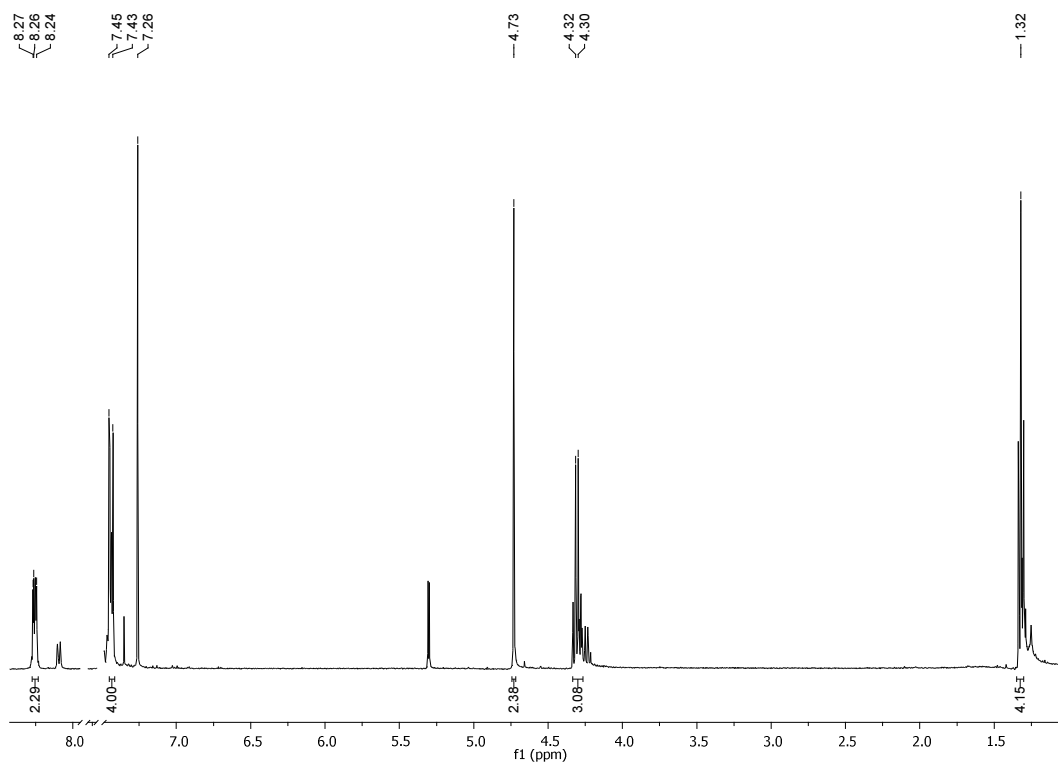
Spettro  $^1\text{H}$  NMR del composto **28b**



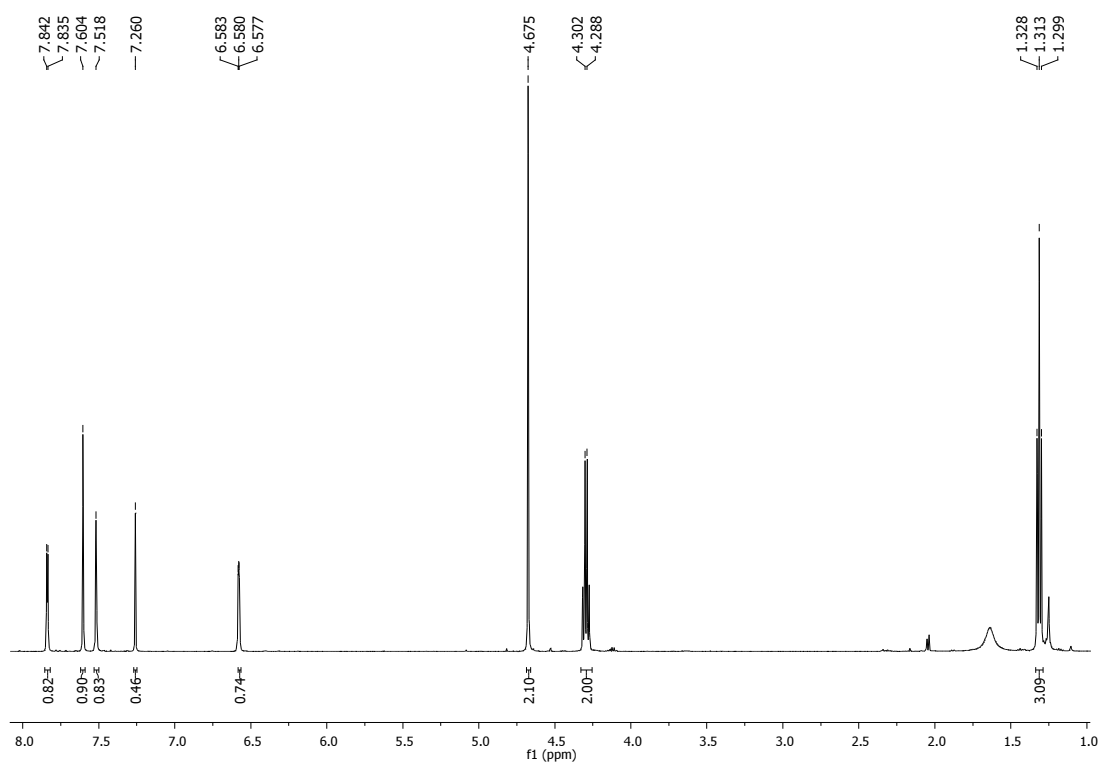
Spettro  $^{13}\text{C}$  NMR del composto **28b**



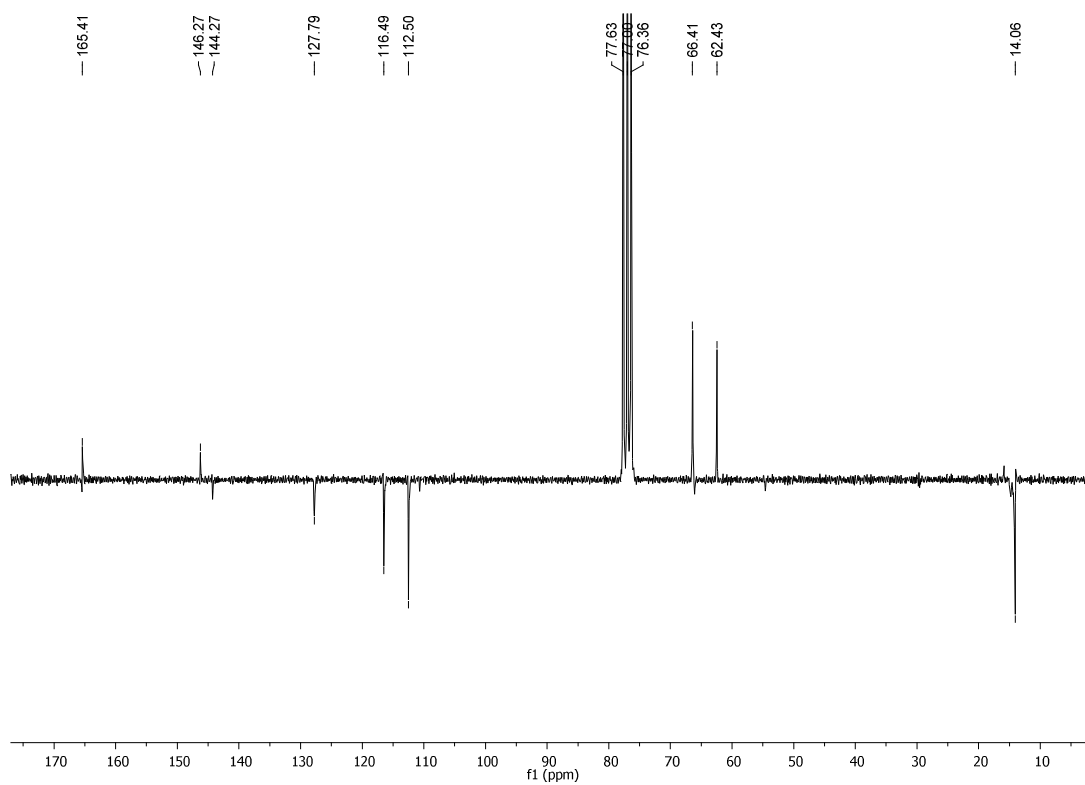
Spettro  $^1\text{H}$  NMR del composto **28c**



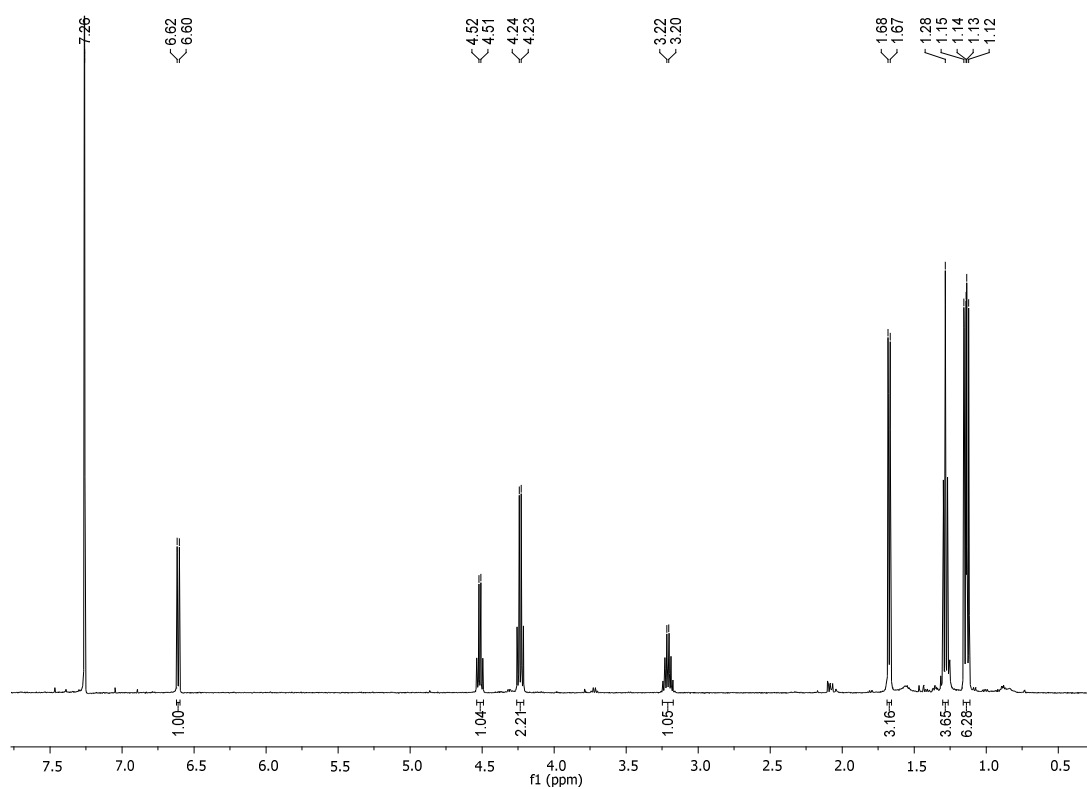
Spettro  $^1\text{H}$  NMR del composto **28d**



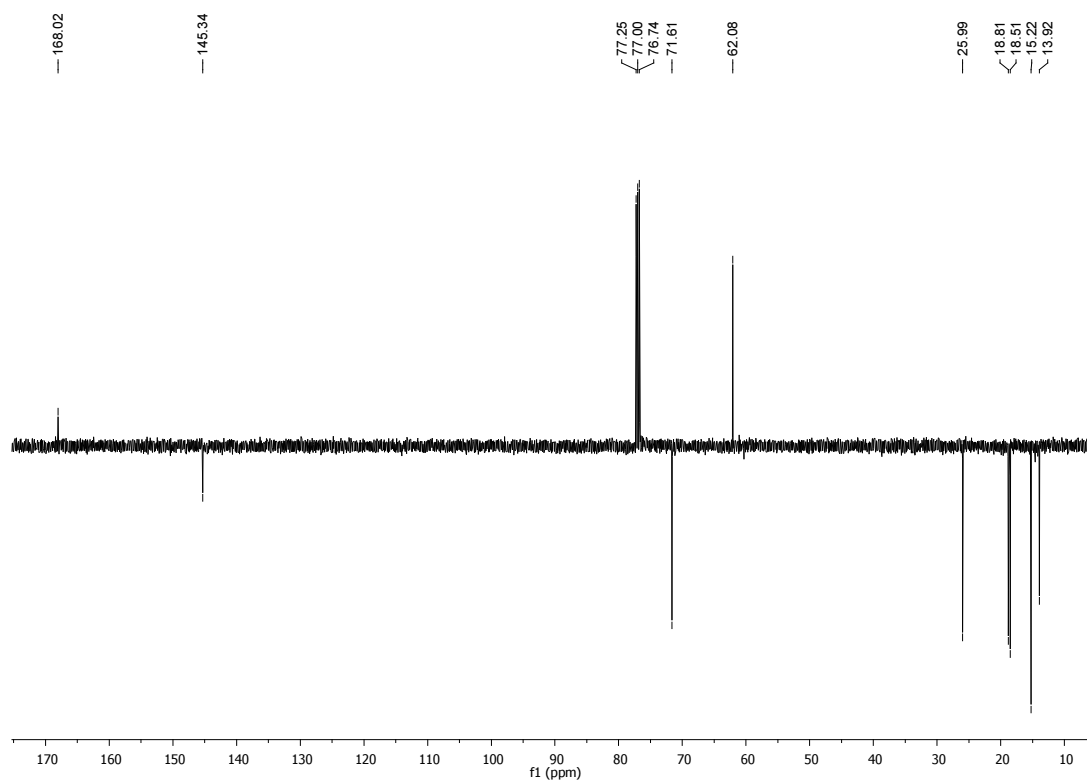
Spettro  $^{13}\text{C}$  NMR del composto **28d**



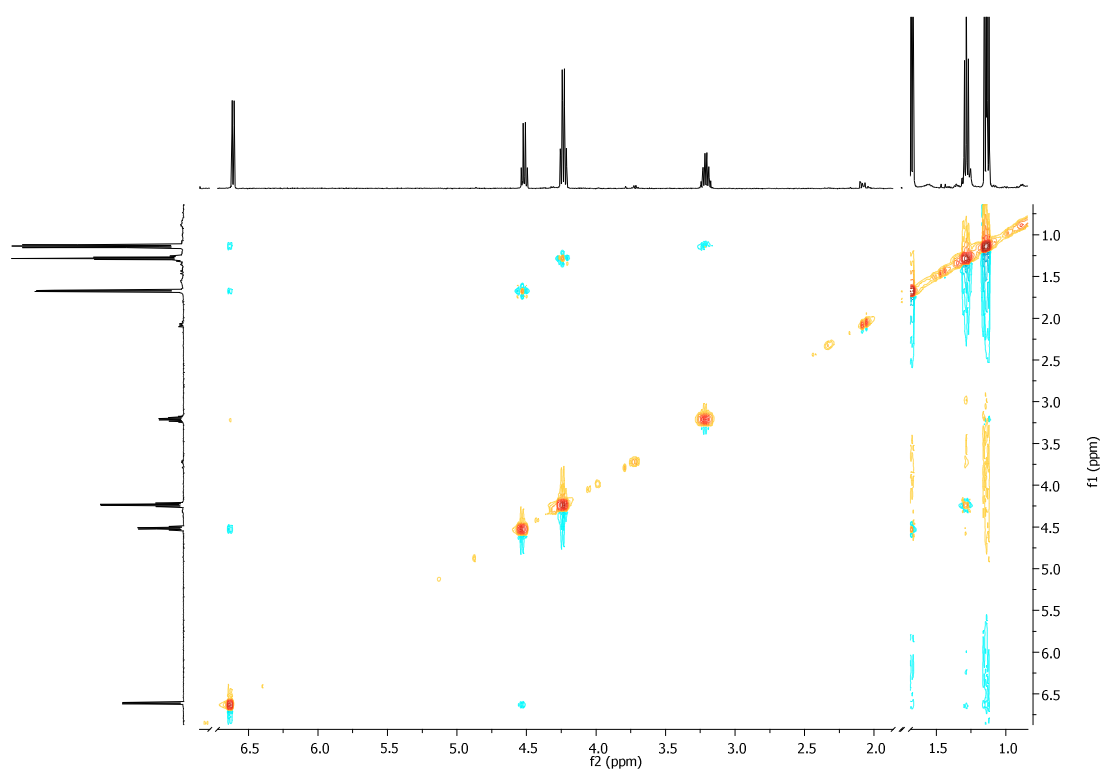
# Spettro $^1\text{H}$ NMR del composto **28e**



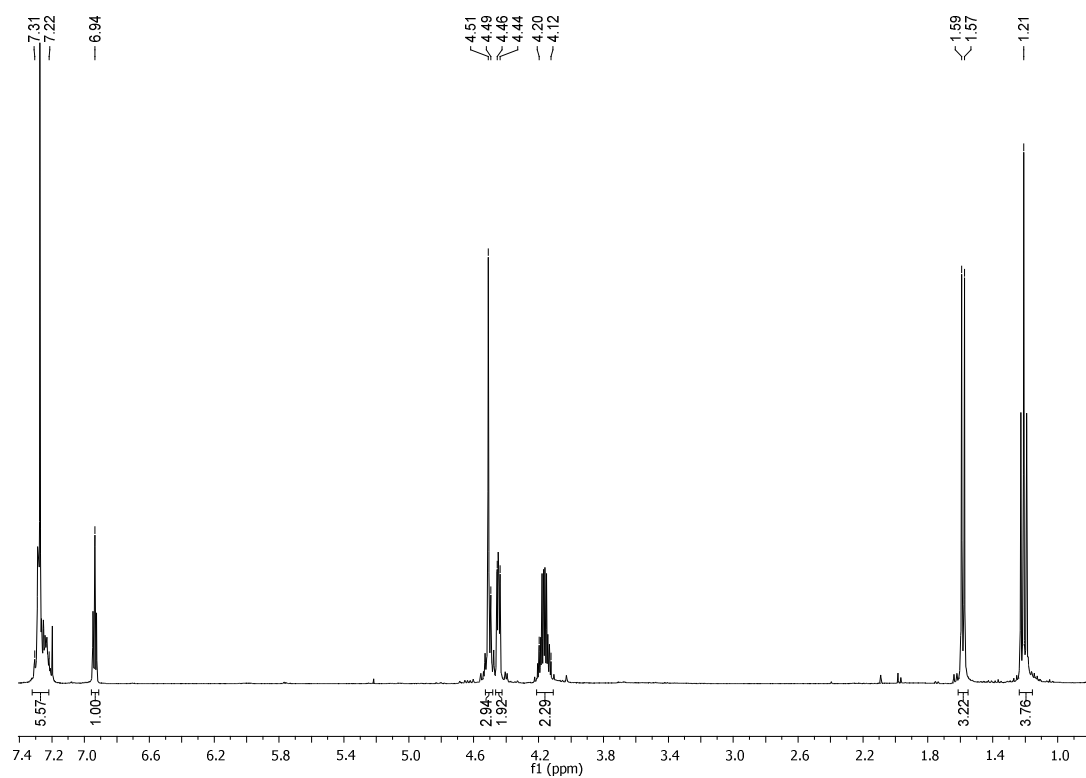
# Spettro $^{13}\text{C}$ NMR del composto **28e**



Spettro 2D-NOESY del composto **28e**

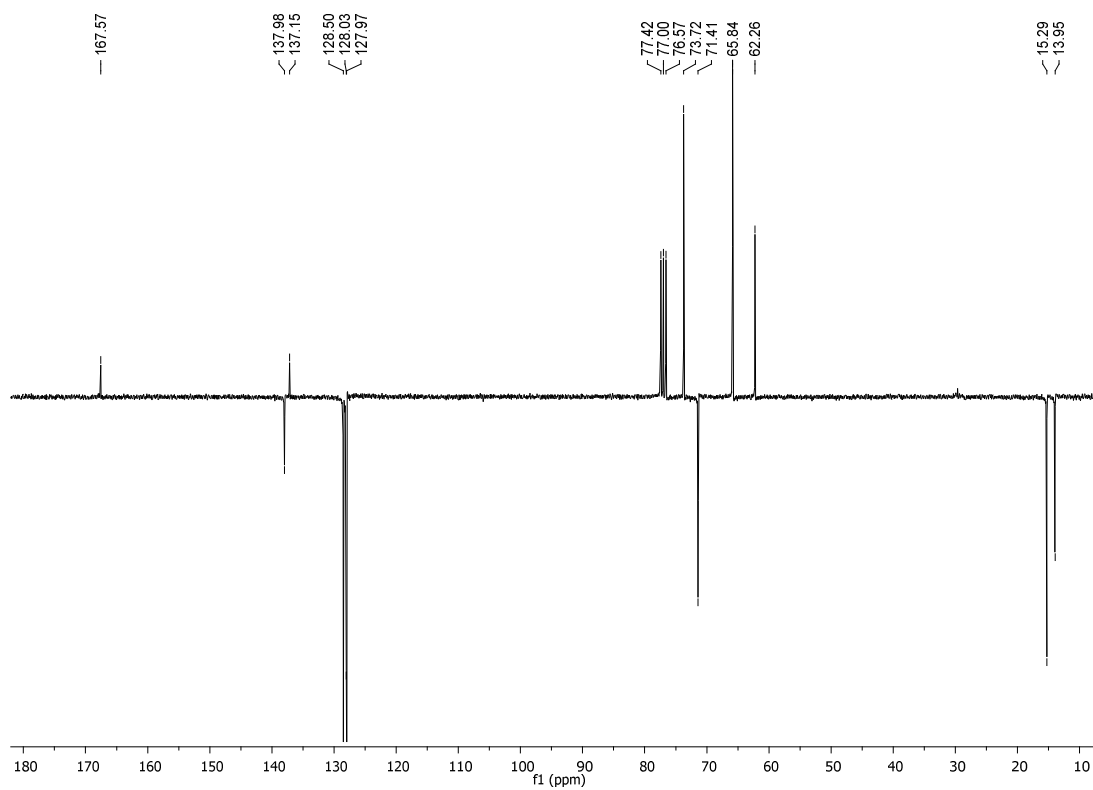


Spettro  $^1\text{H}$  NMR del composto **28f**

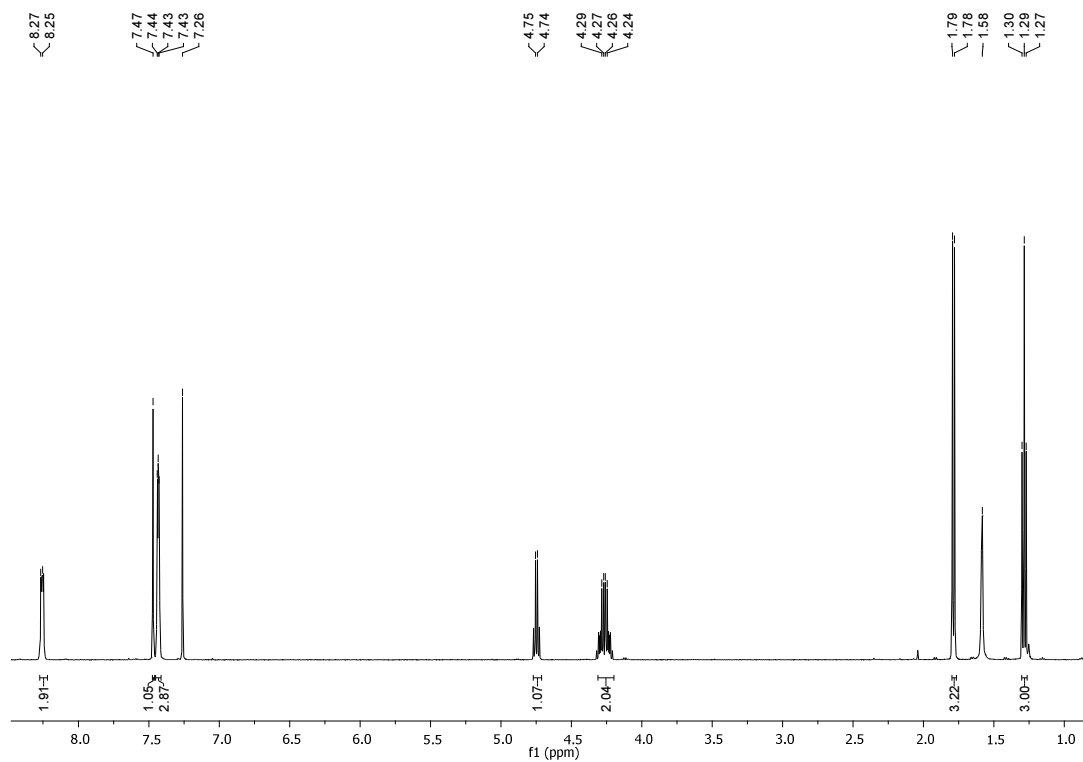




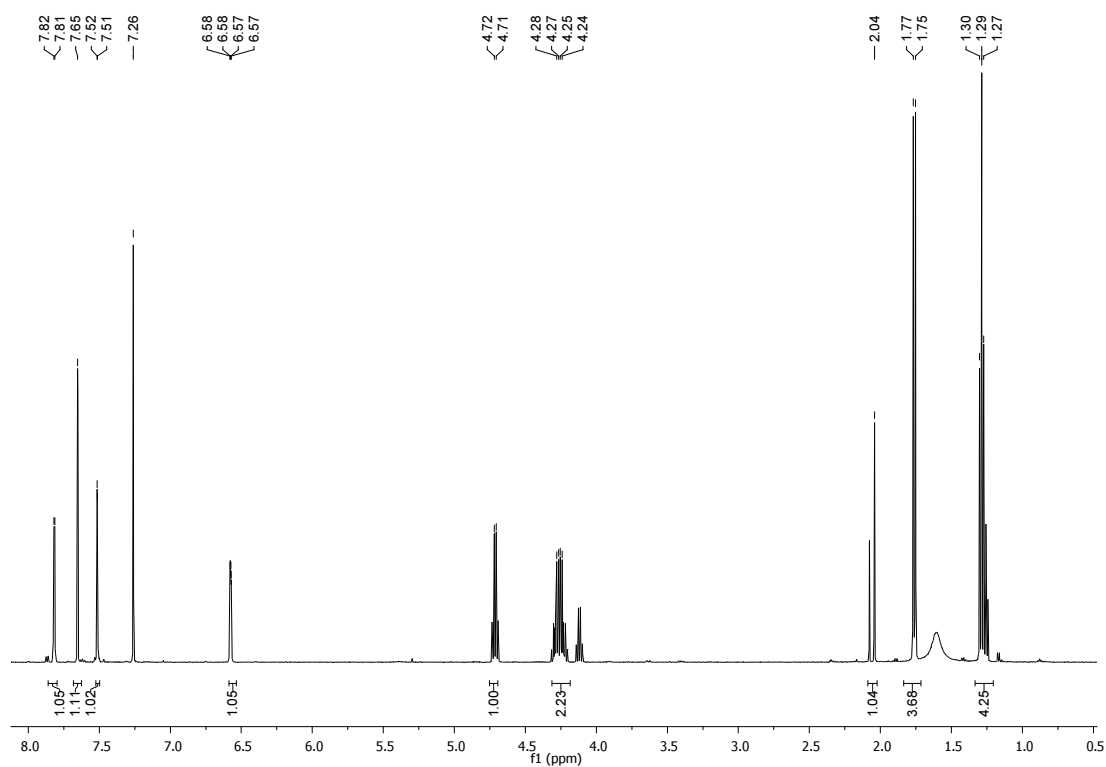
Spettro  $^{13}\text{C}$  NMR del composto **28f**



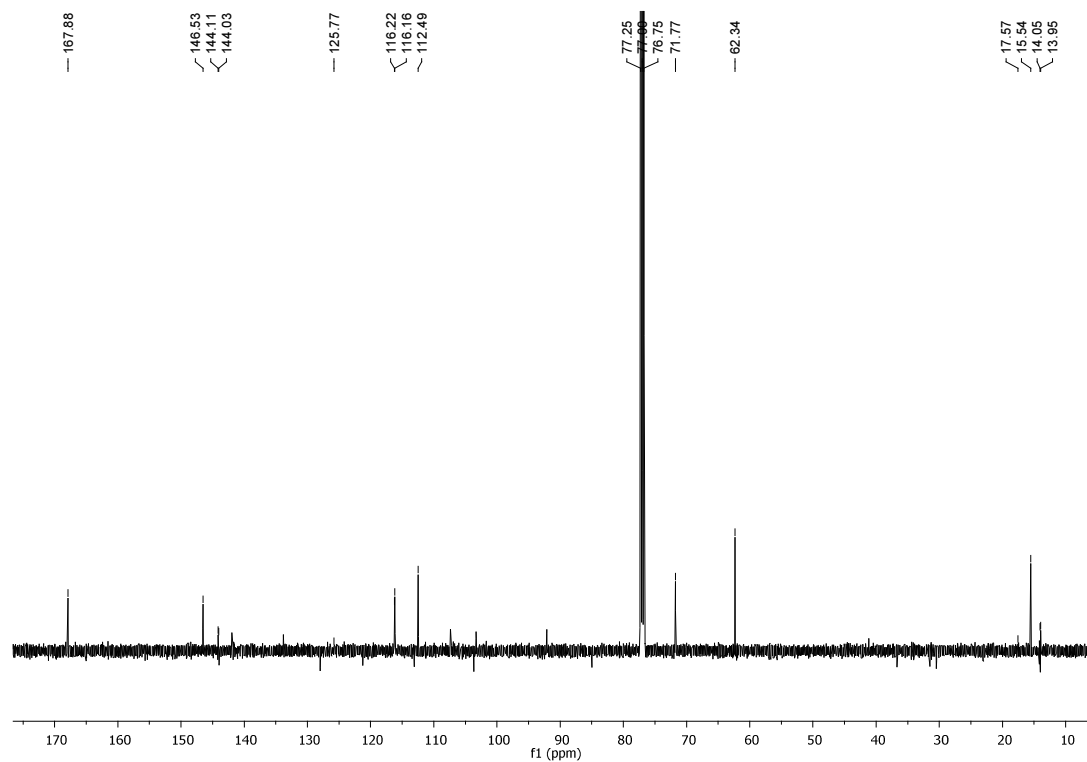
Spettro  $^1\text{H}$  NMR del composto **28g**



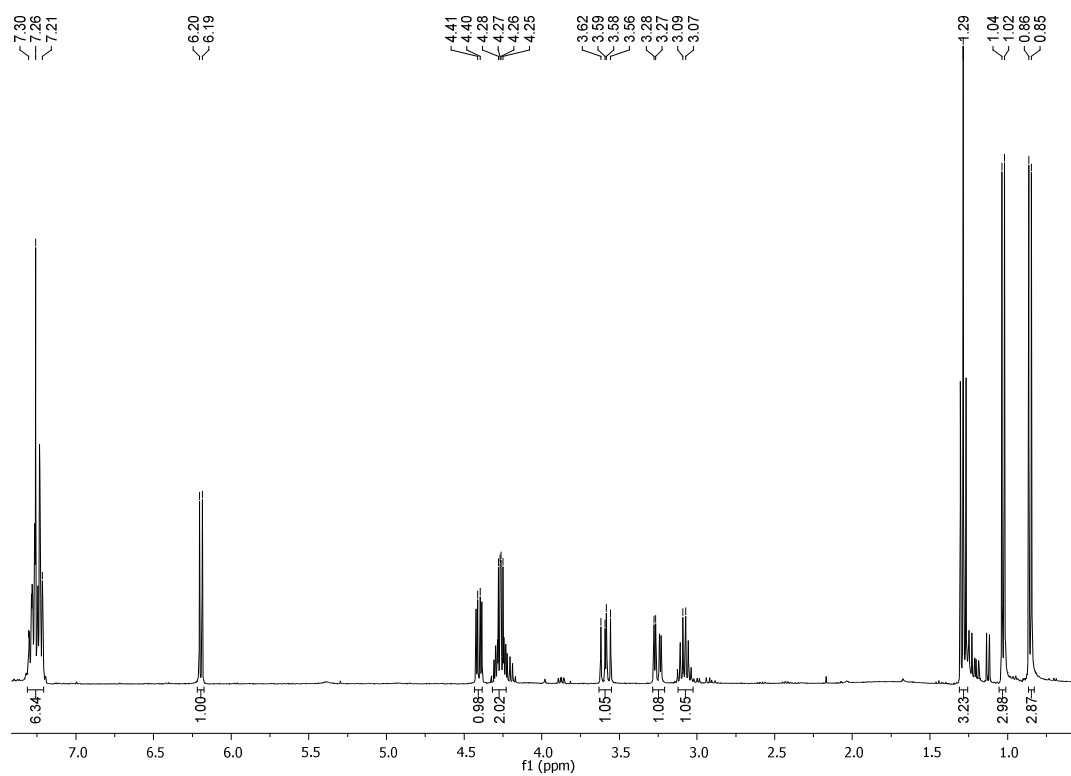
# Spettro $^1\text{H}$ NMR del composto **28h**



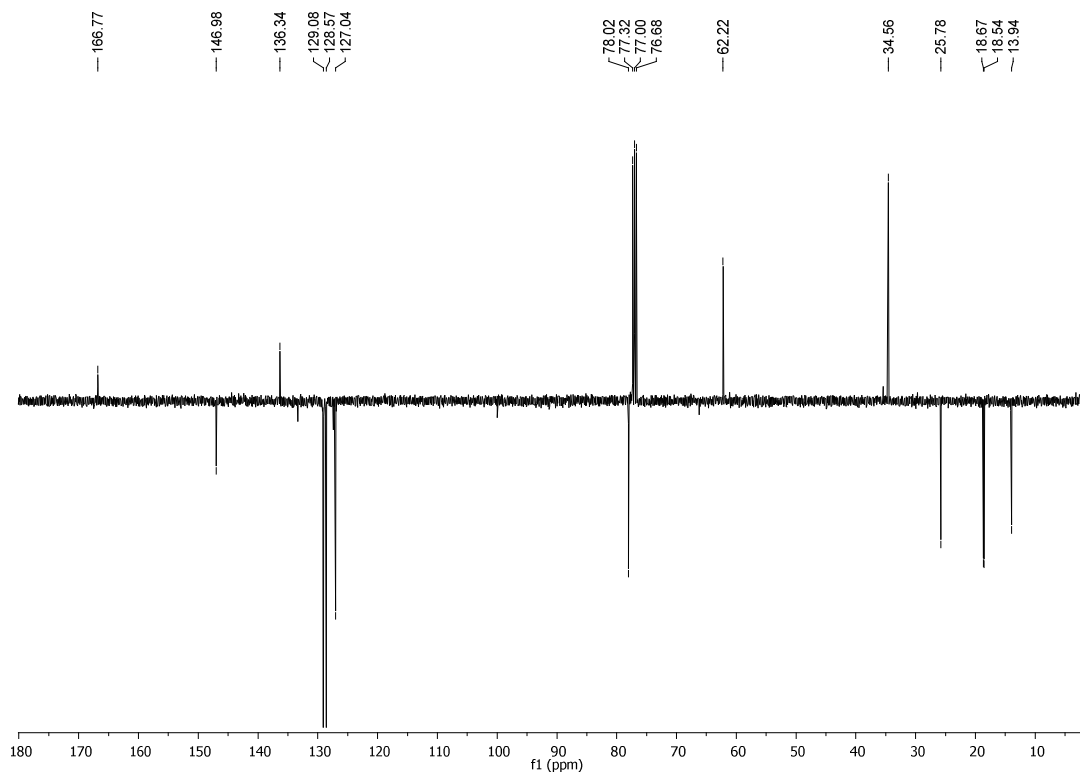
# Spettro $^{13}\text{C}$ NMR del composto **28h**



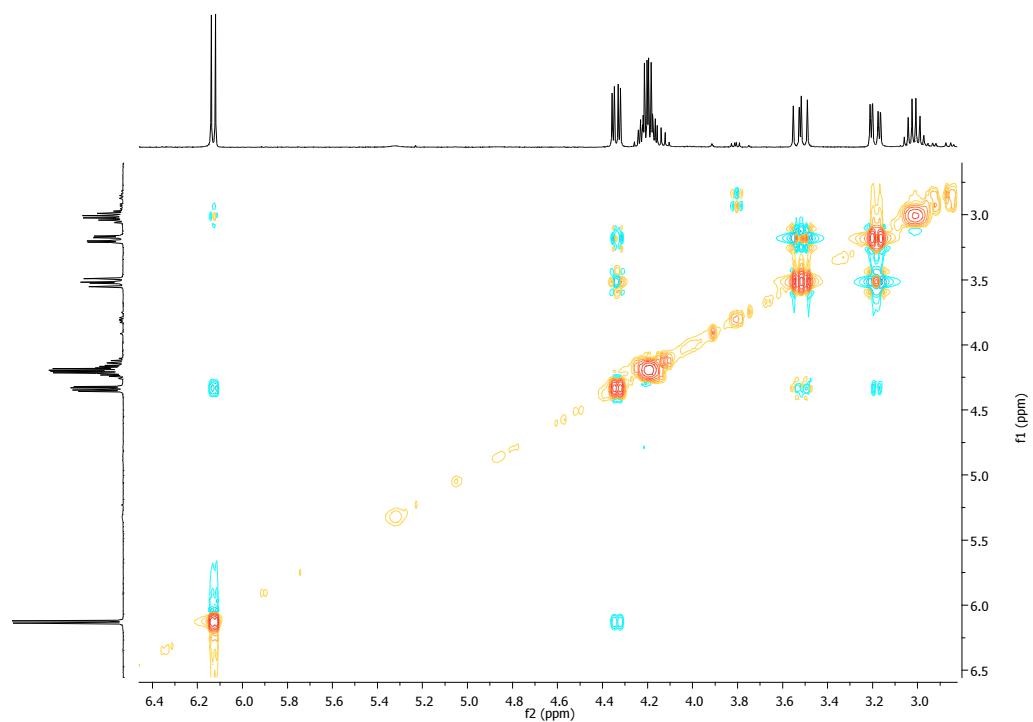
# Spettro $^1\text{H}$ NMR del composto **28i**



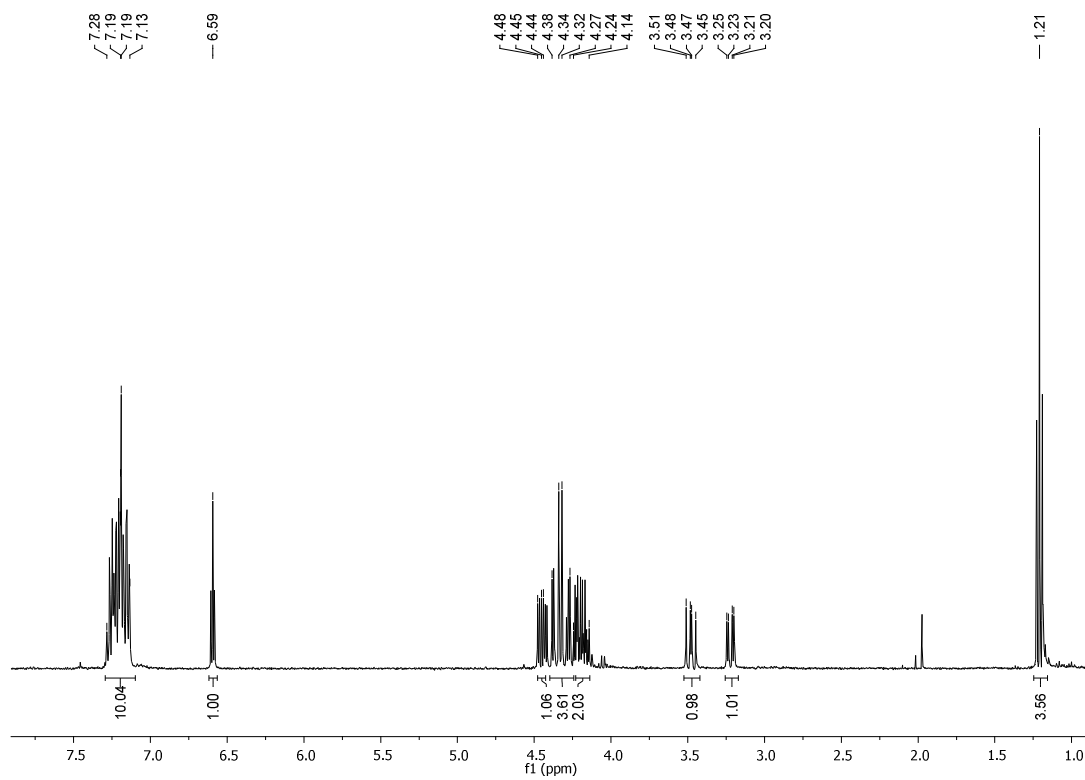
# Spettro $^{13}\text{C}$ NMR del composto **28i**



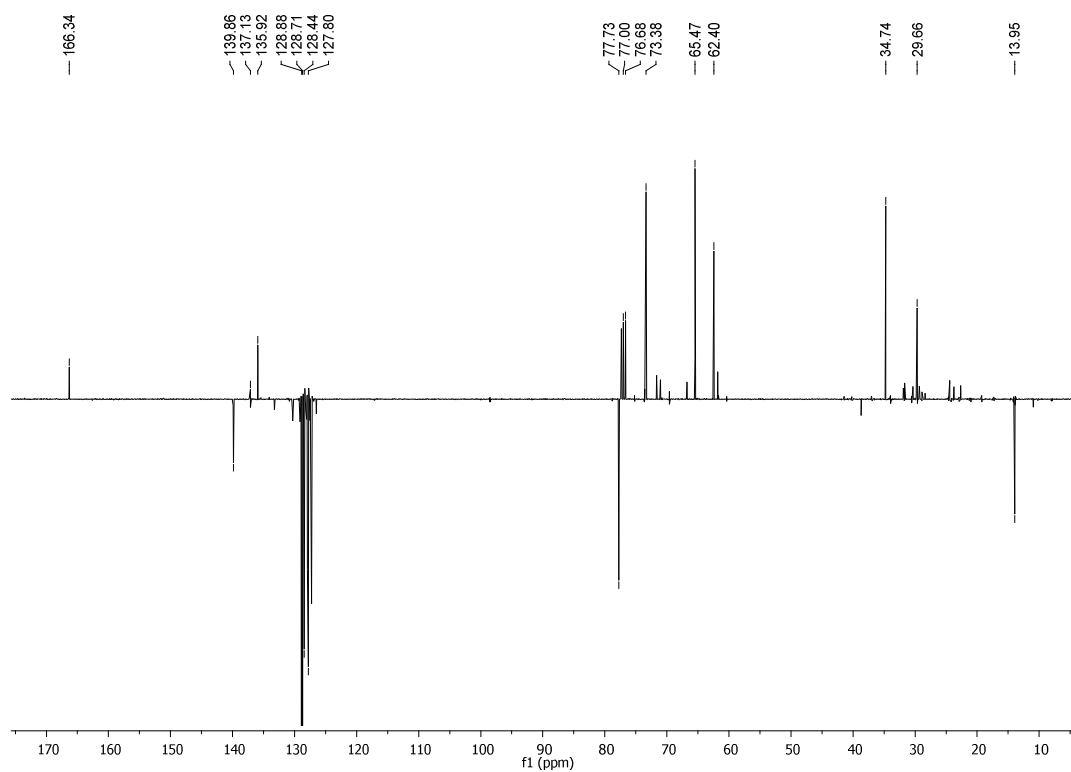
Spettro 2D-NOESY del composto **28i**



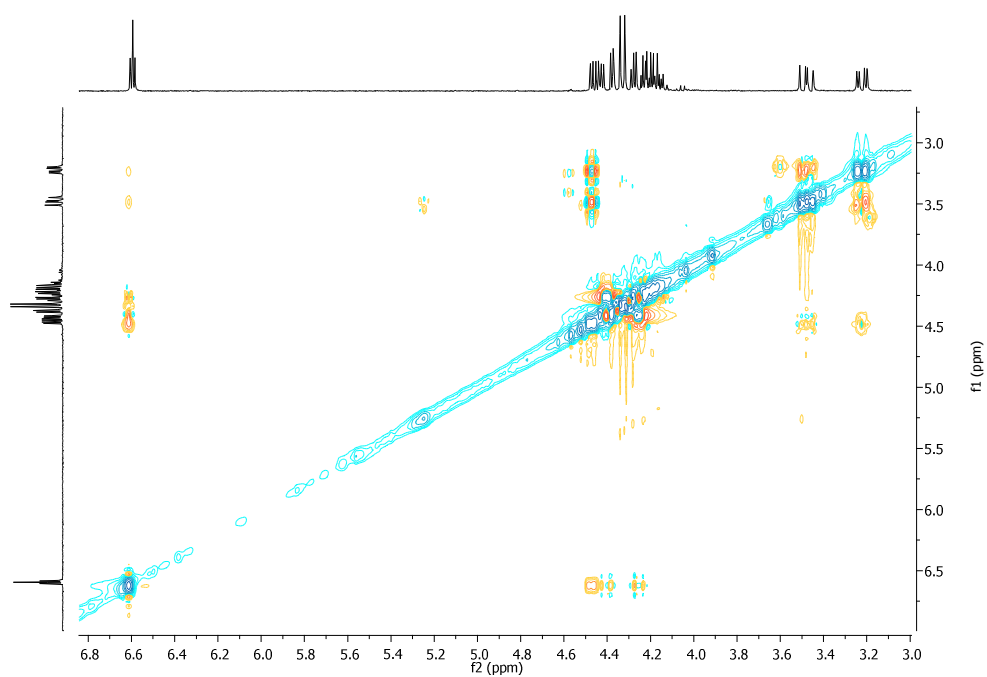
Spettro  $^1\text{H}$  NMR del composto **28i**



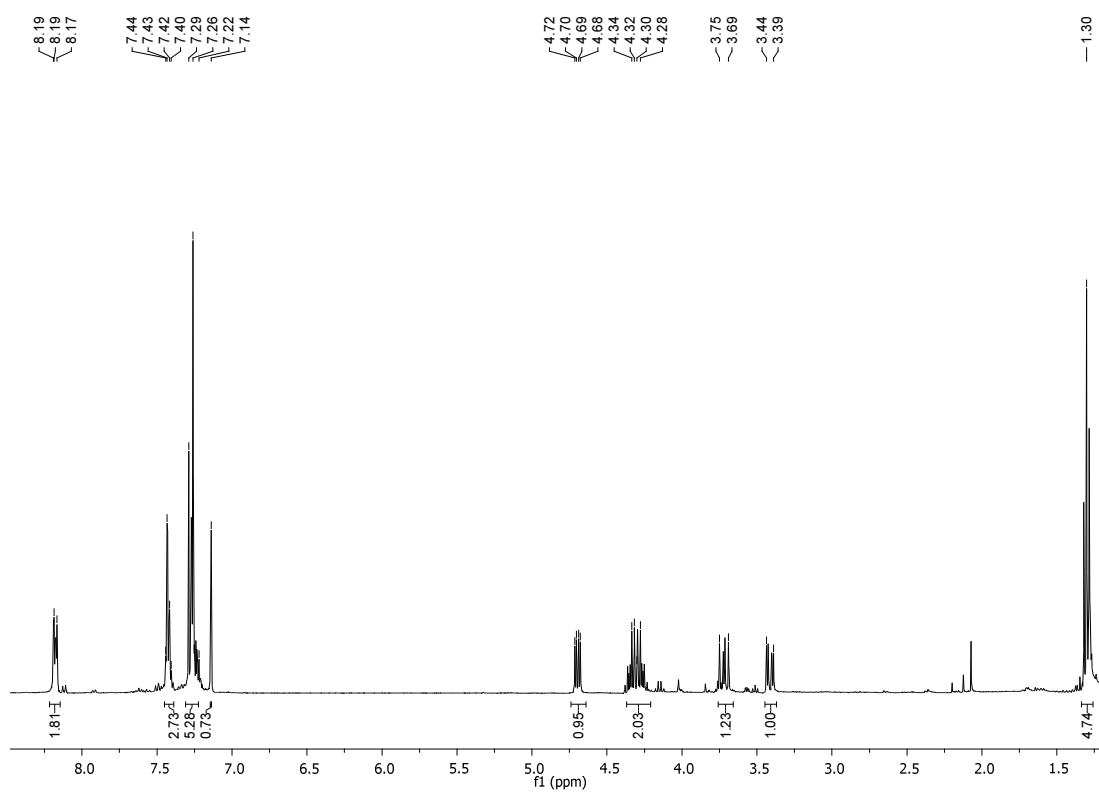
# Spettro $^{13}\text{C}$ NMR del composto **28I**



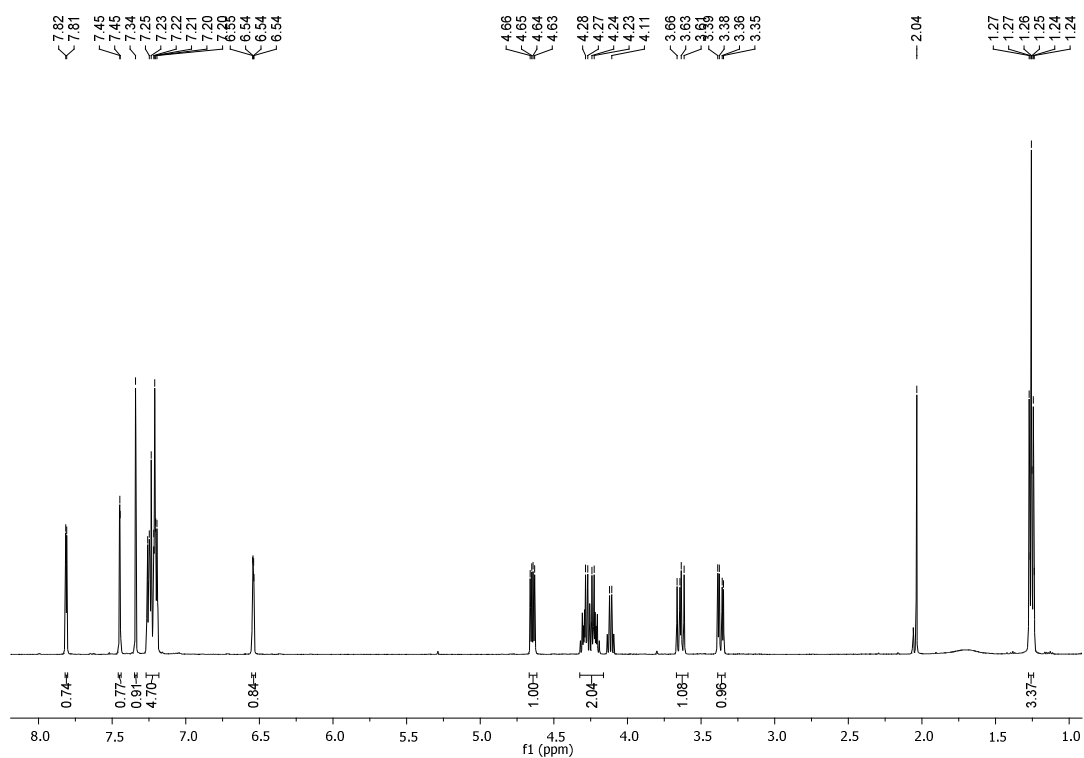
# Spettro 2D-NOESY del composto **28I**



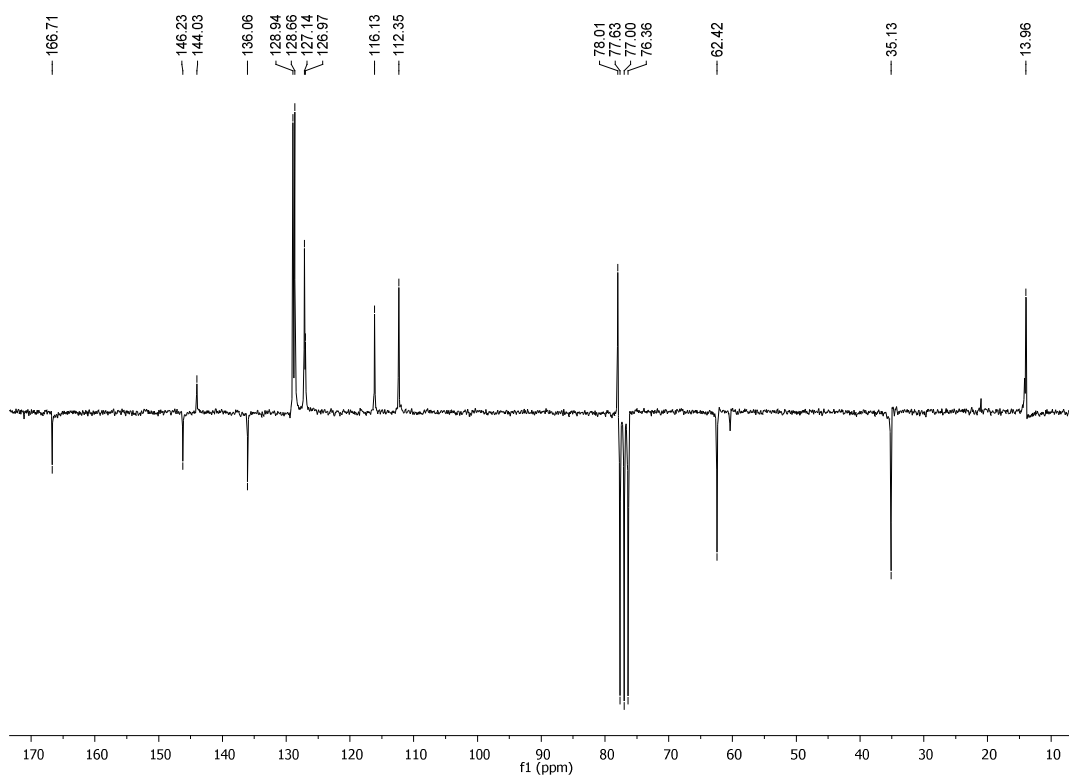
# Spettro $^1\text{H}$ NMR del composto **28m**



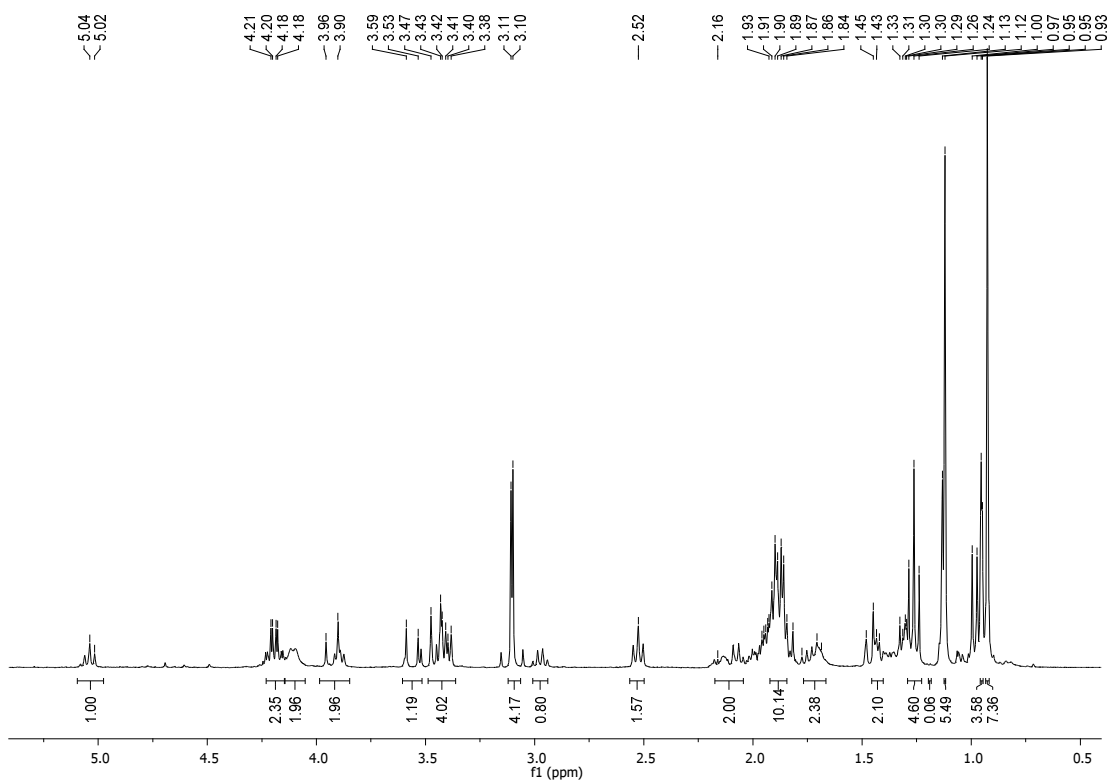
# Spettro $^1\text{H}$ NMR del composto **28n**



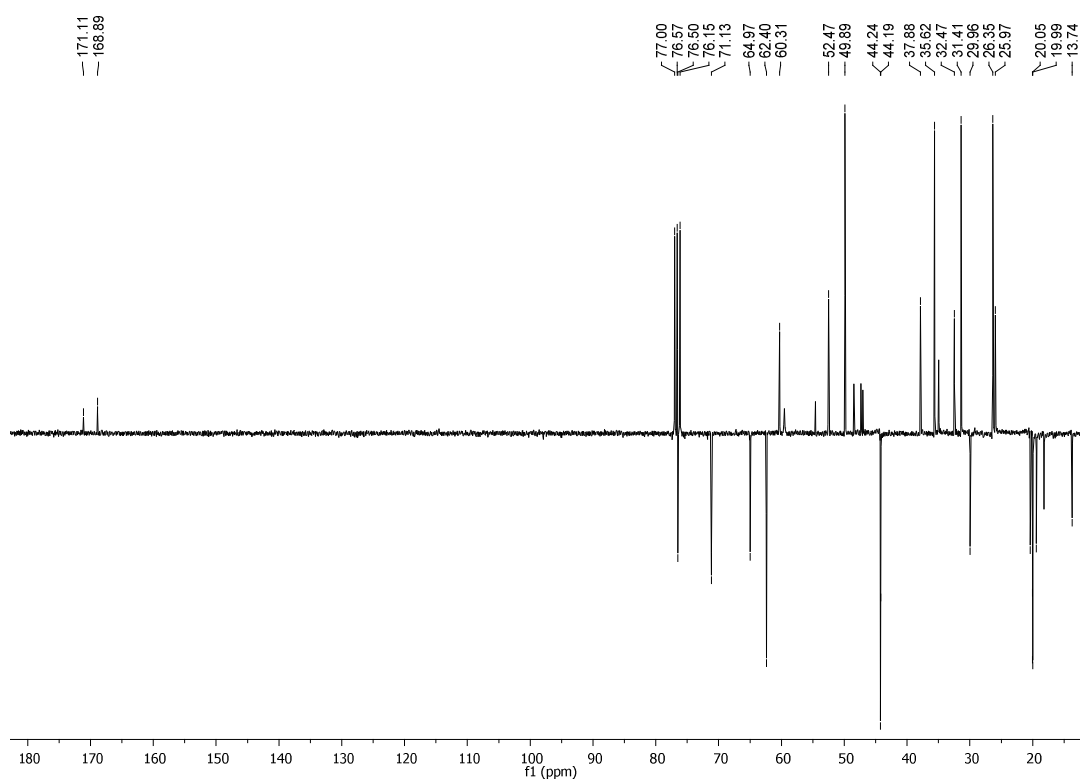
# Spettro $^{13}\text{C}$ NMR del composto **28n**



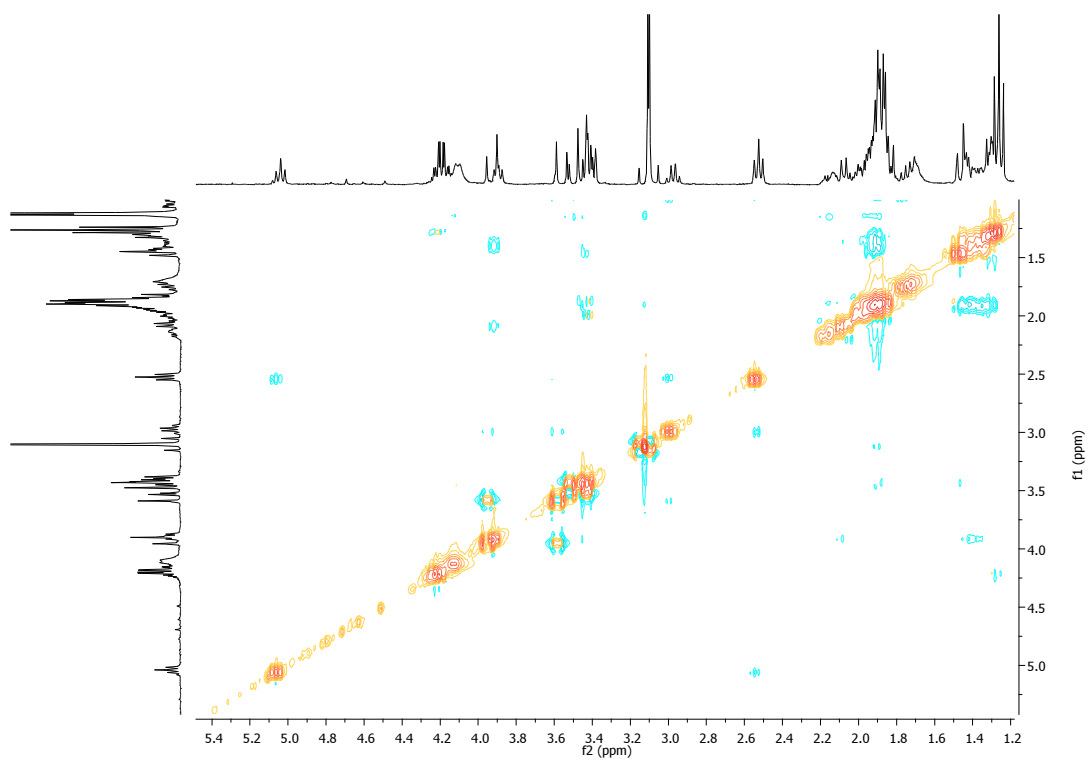
# Spettro $^1\text{H}$ NMR del composto **29a**



# Spettro $^{13}\text{C}$ NMR del composto **29a**

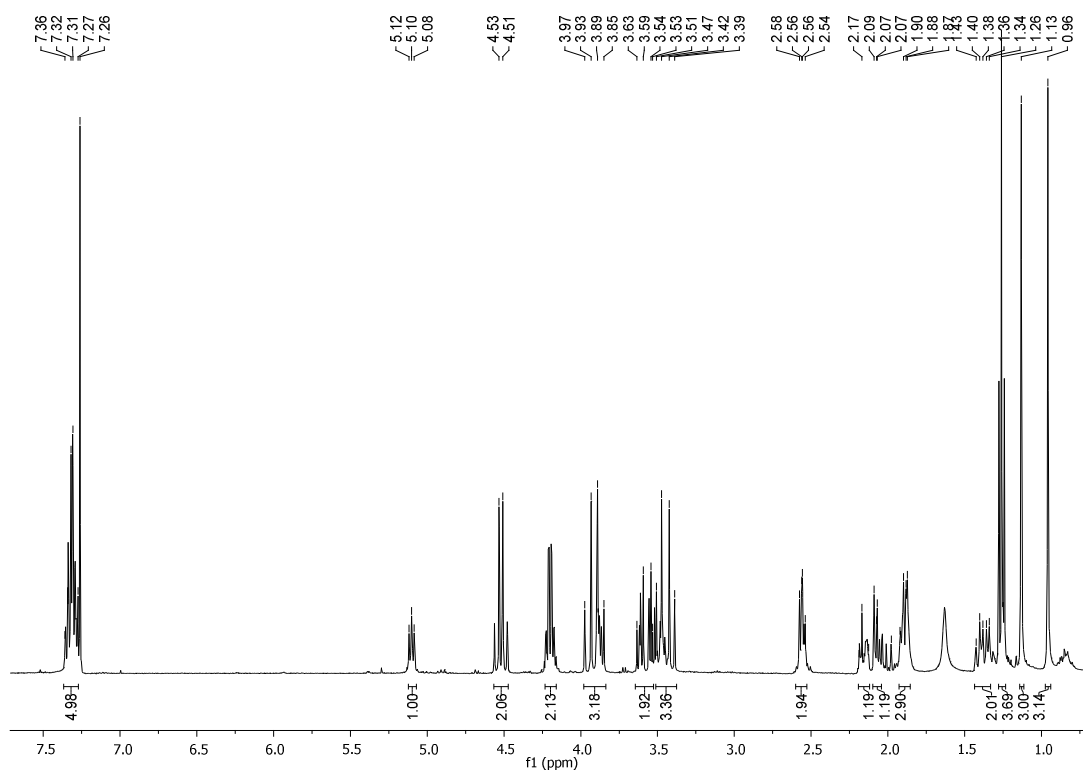


# Spettro 2D-NOESY del composto **29a**

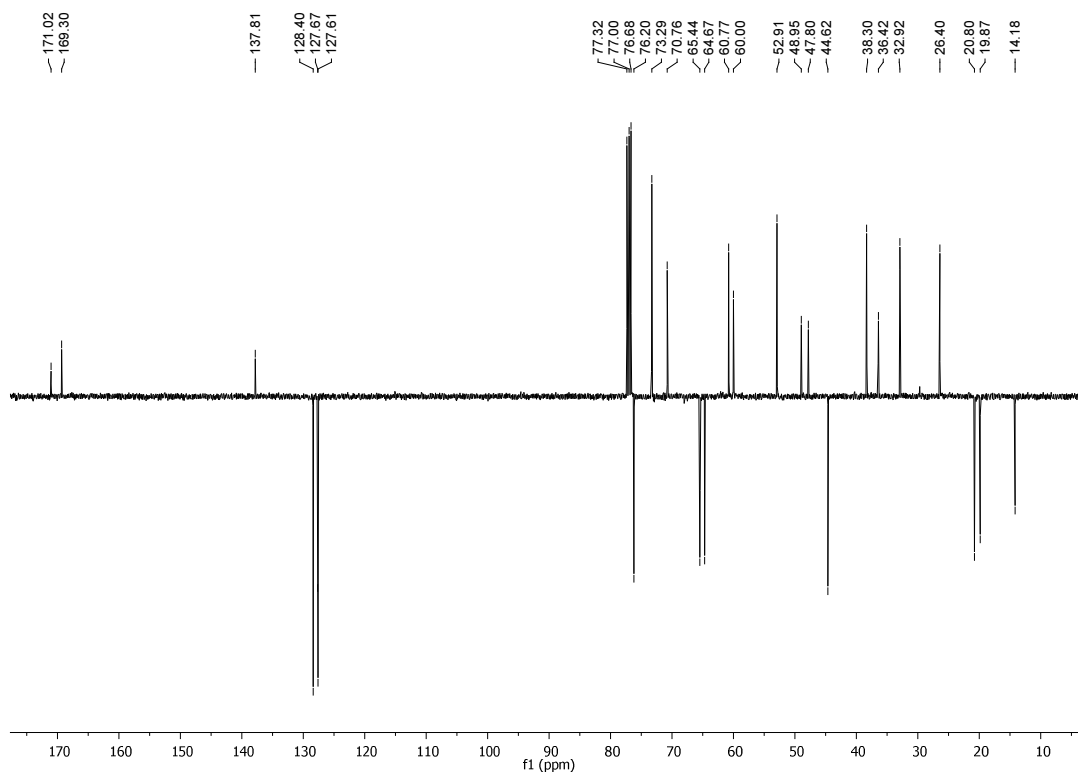




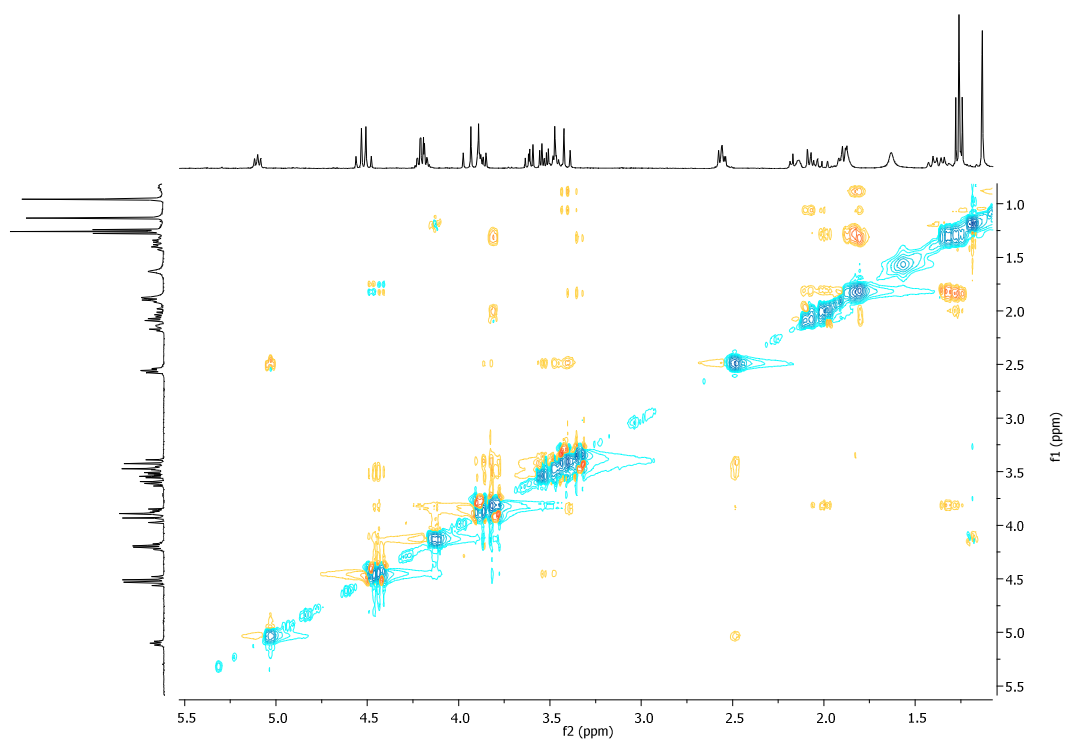
# Spettro $^1\text{H}$ NMR del composto **29b**



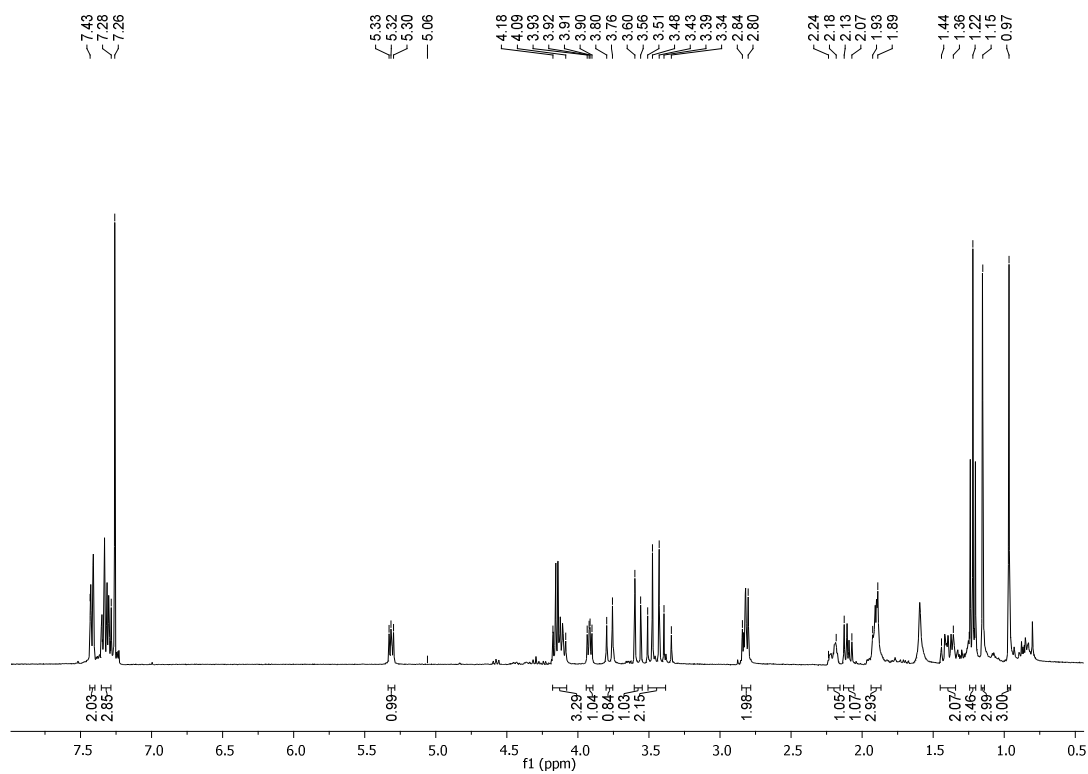
# Spettro $^{13}\text{C}$ NMR del composto **29b**



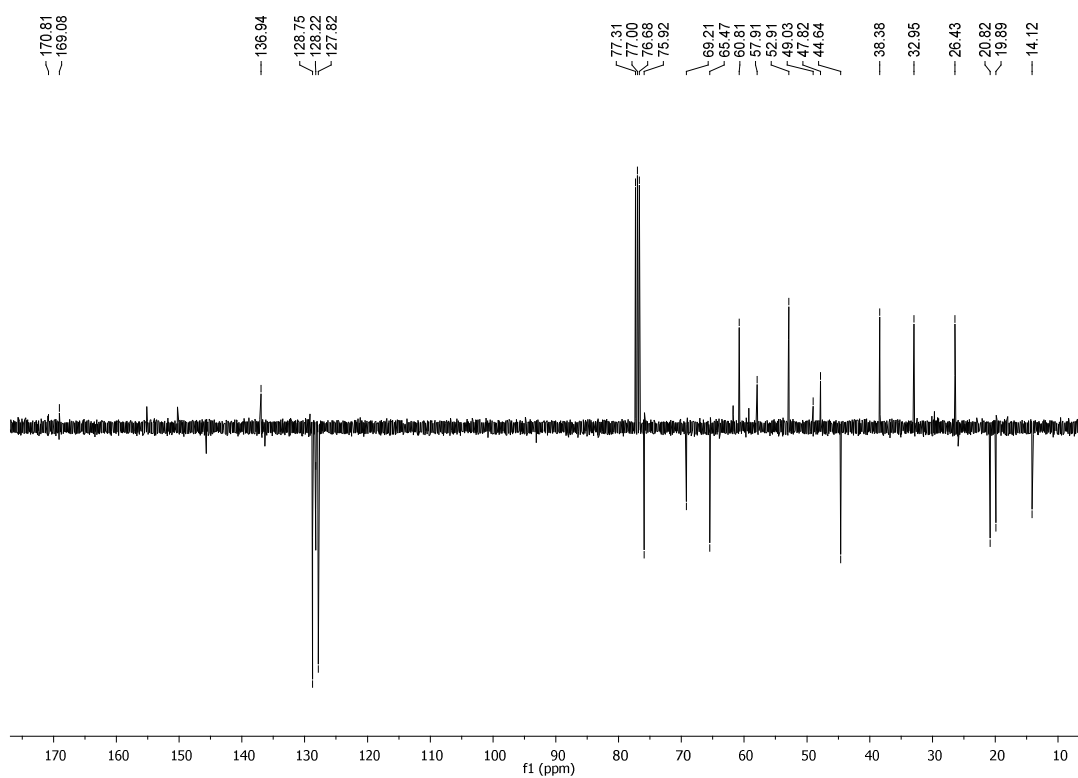
Spettro 2D-NOESY del composto **29b**



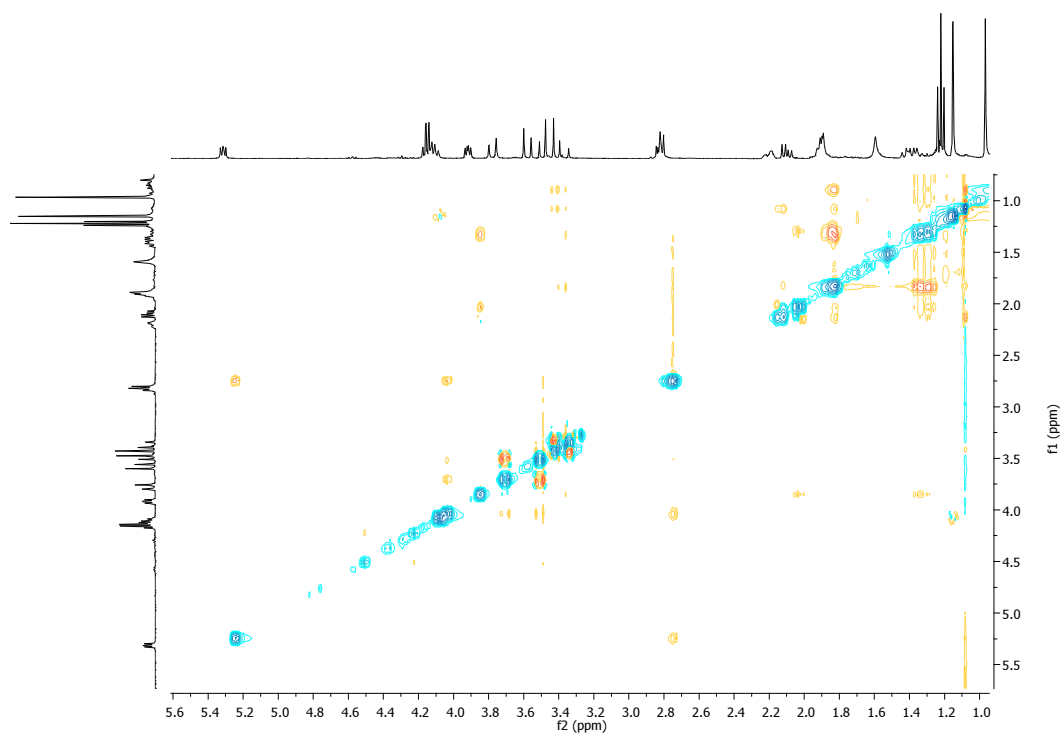
Spettro  $^1\text{H}$  NMR del composto **29c**



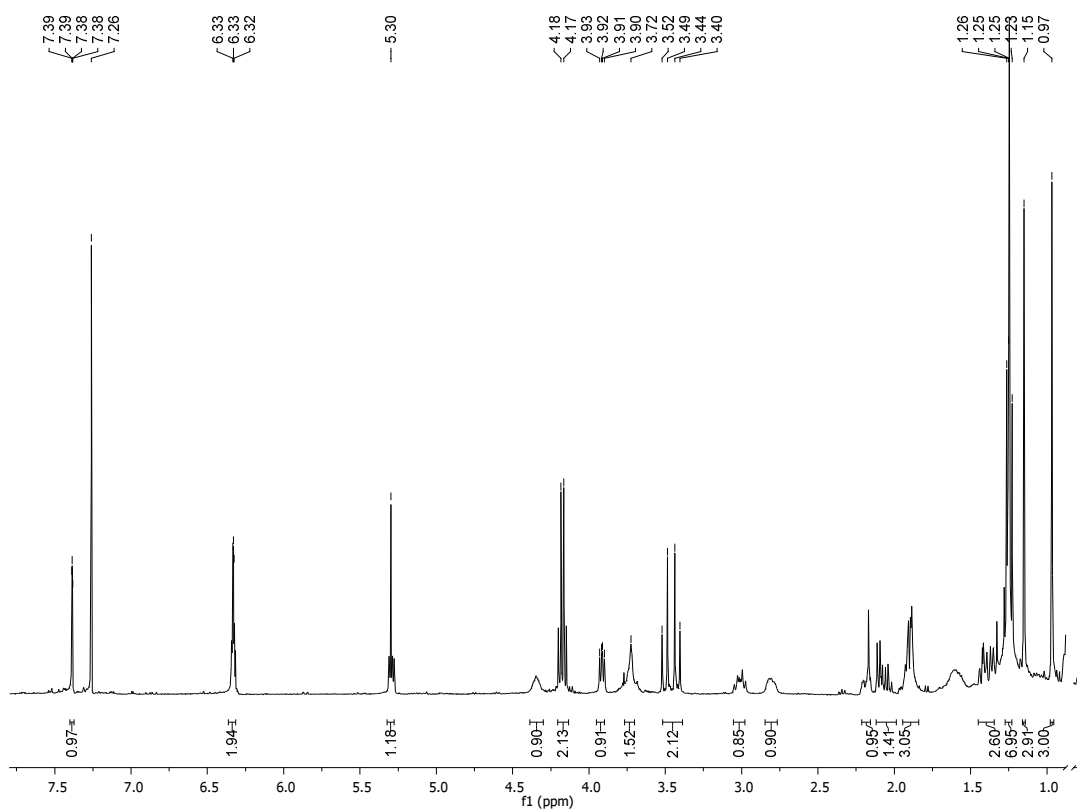
# Spettro $^{13}\text{C}$ NMR del composto **29c**



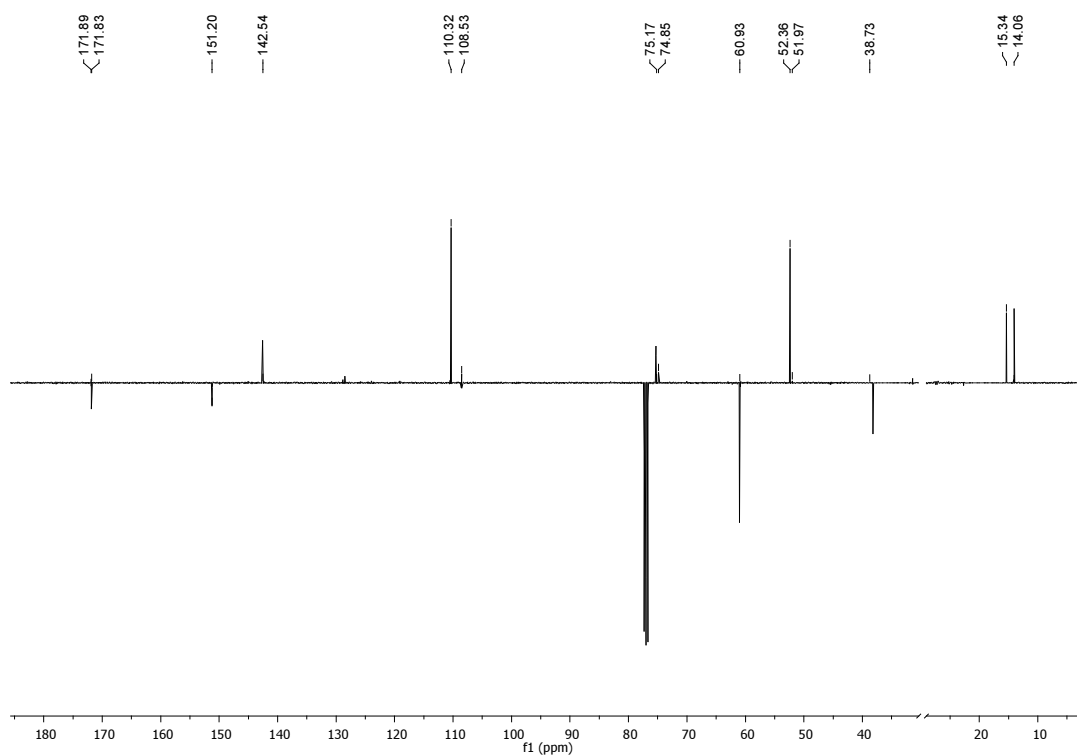
# Spettro 2D-NOESY del composto **29c**



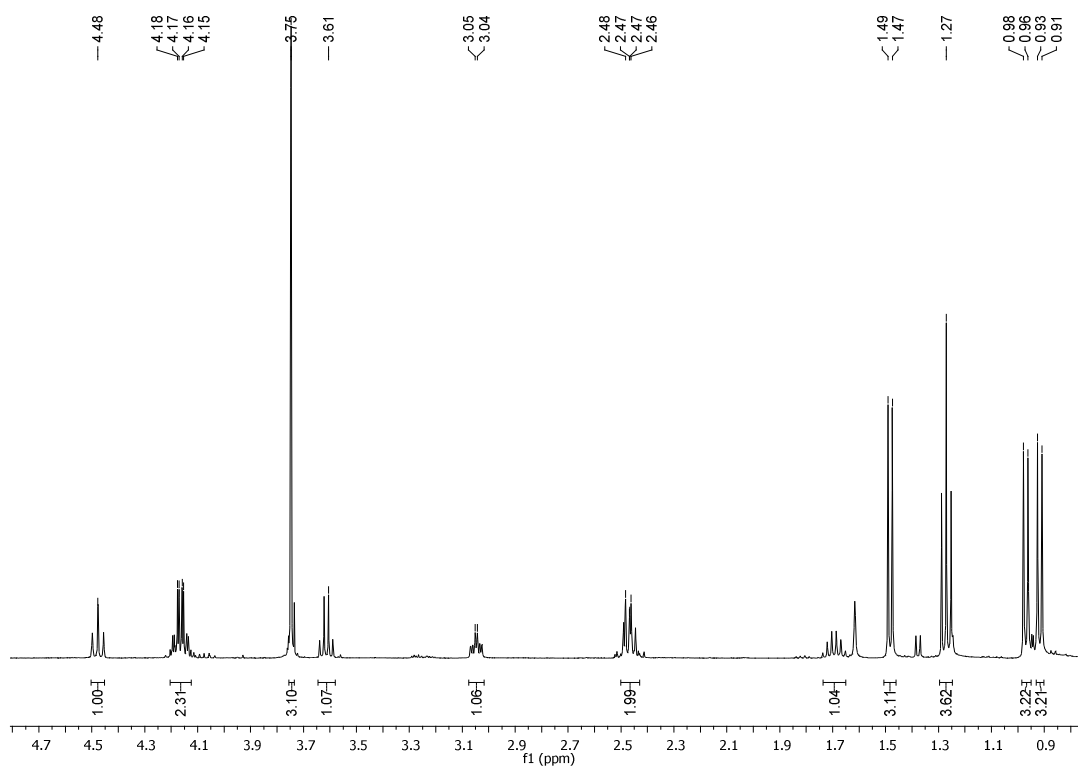
# Spettro $^1\text{H}$ NMR del composto **29d**



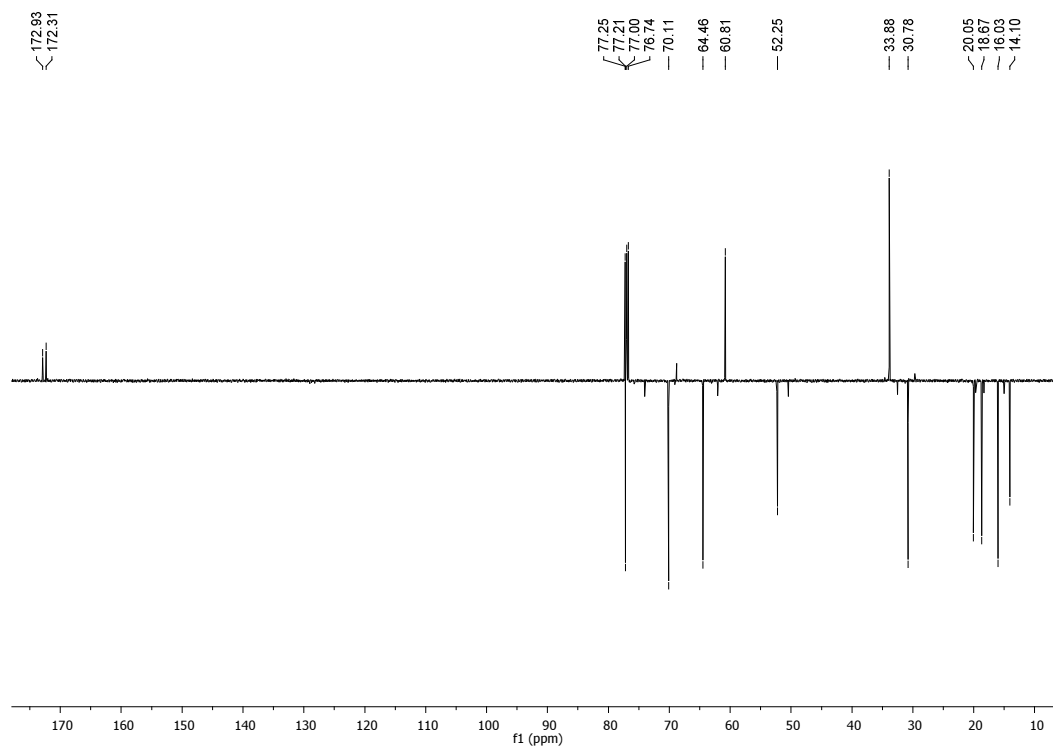
# Spettro $^{13}\text{C}$ NMR del composto **29d**



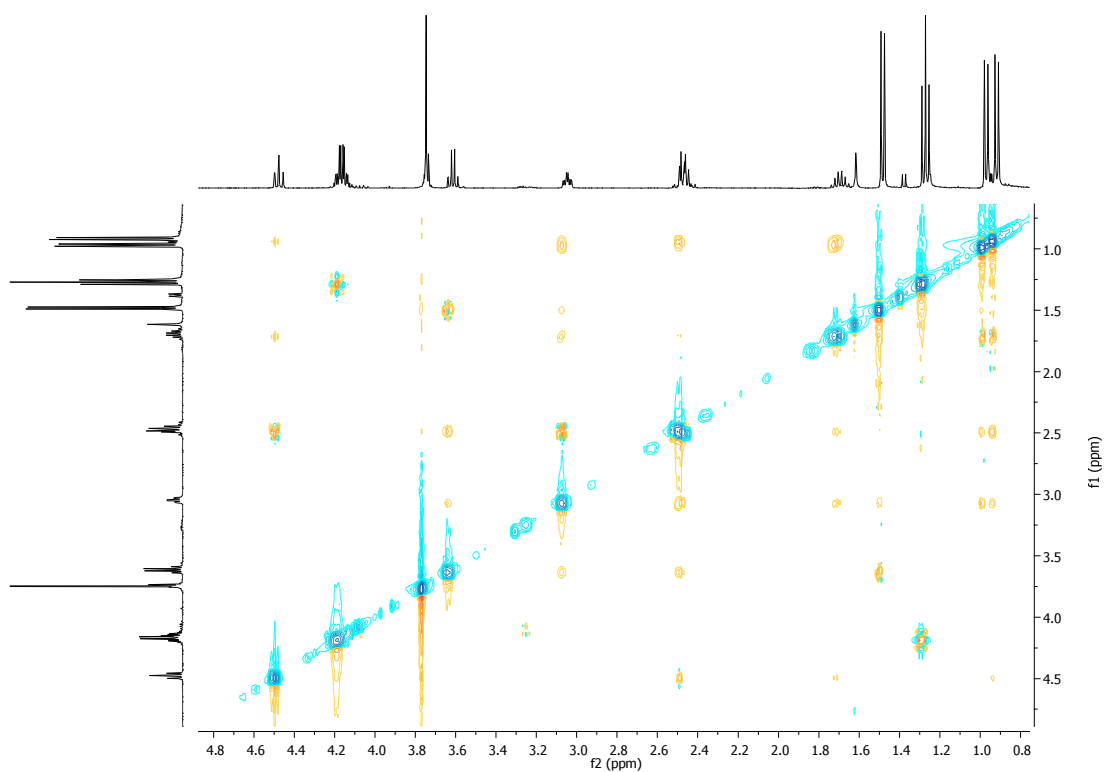
# Spettro $^1\text{H}$ NMR del composto **29e**



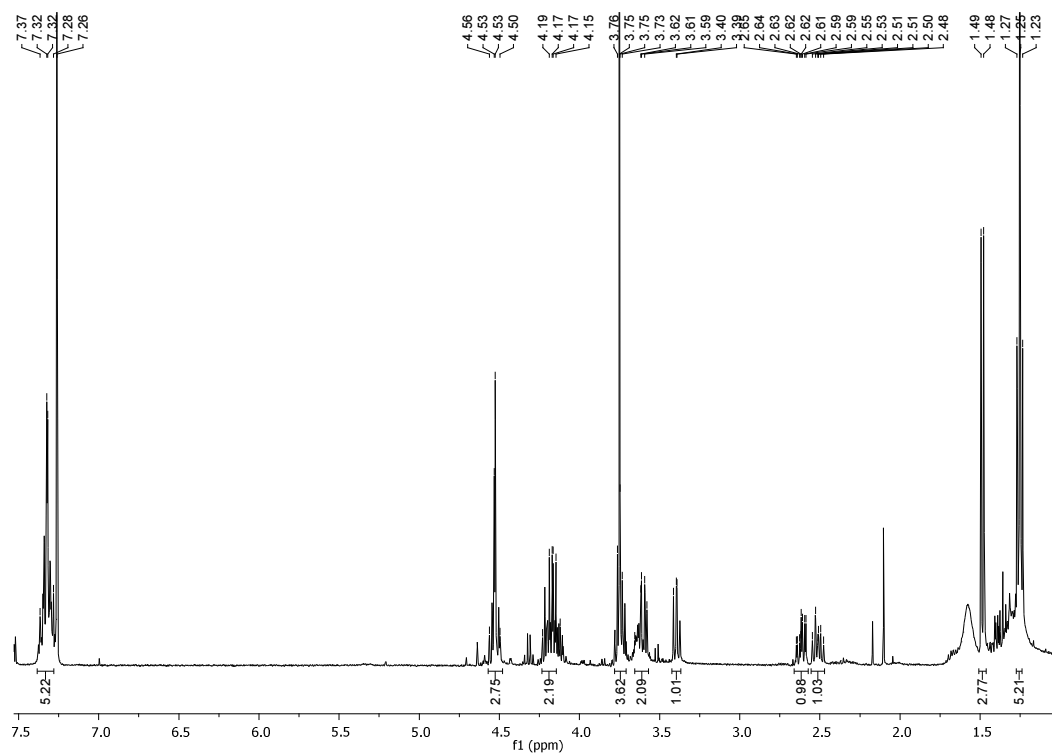
# Spettro $^{13}\text{C}$ NMR del composto **29e**



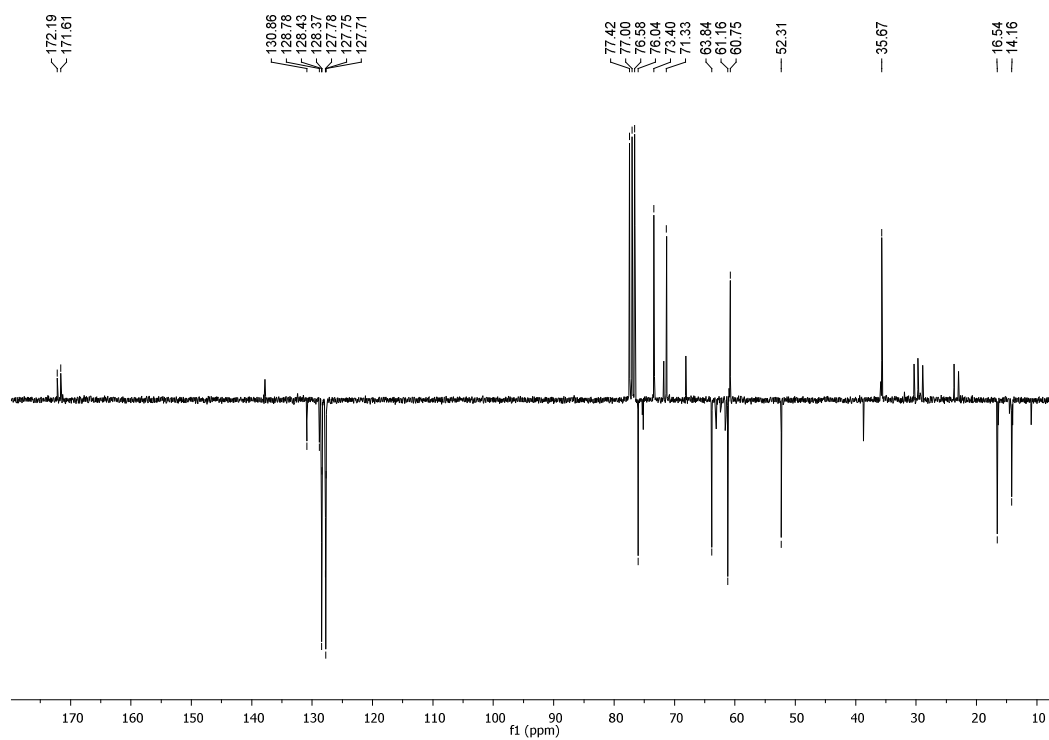
Spettro 2D-NOESY del composto **29e**



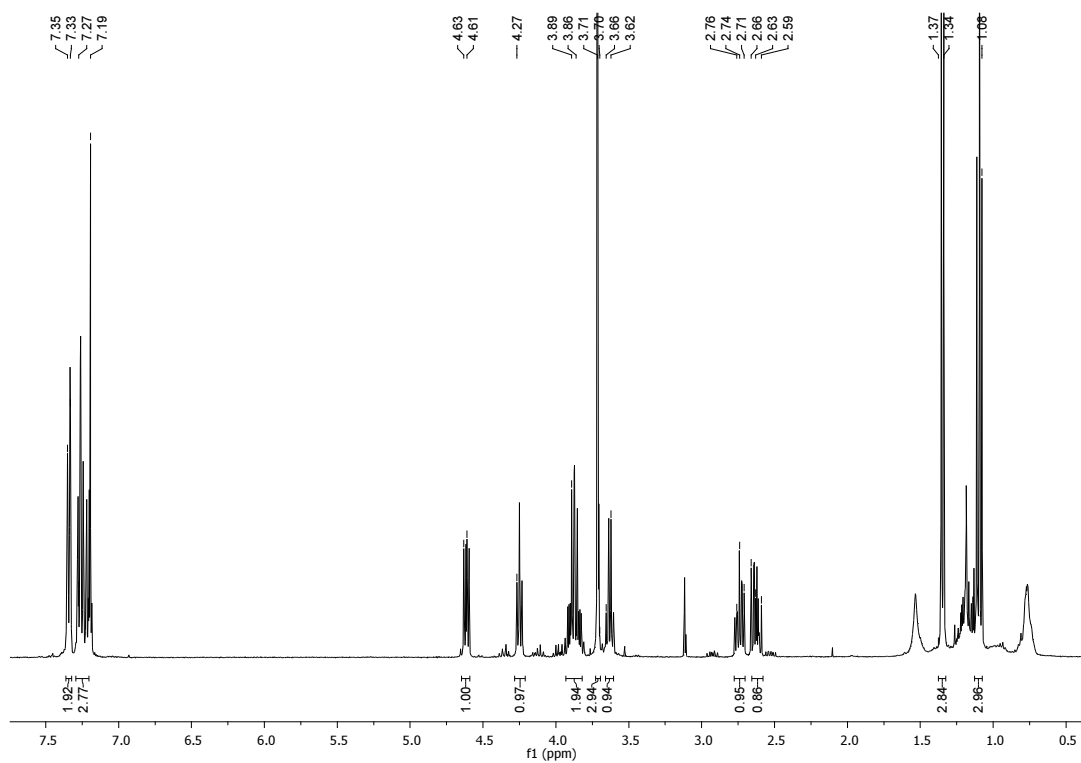
Spettro  $^1\text{H}$  NMR del composto **29f**



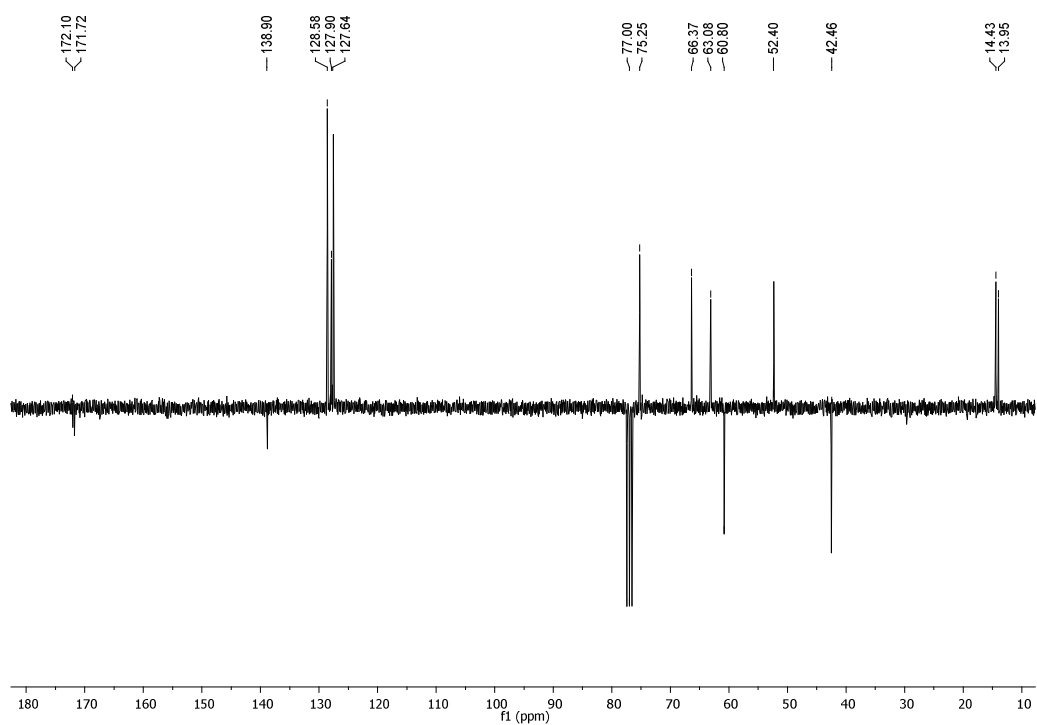
# Spettro $^{13}\text{C}$ NMR del composto **29f**



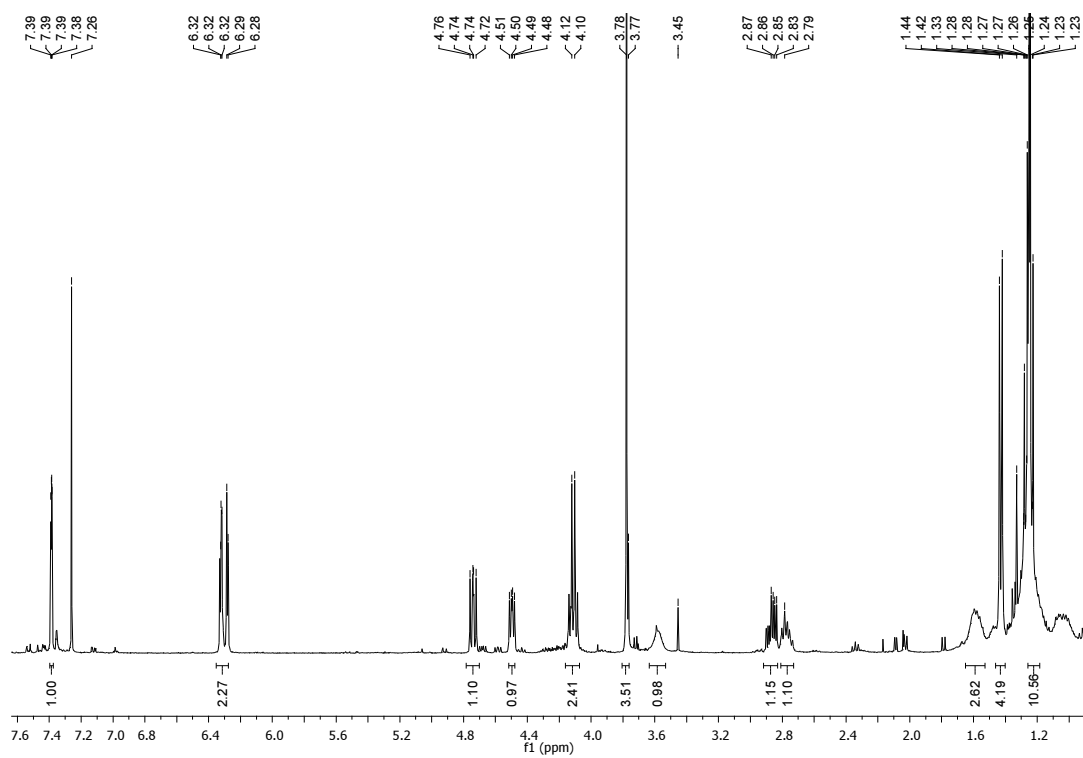
# Spettro $^1\text{H}$ NMR del composto **29g**



Spettro  $^{13}\text{C}$  NMR del composto **29g**

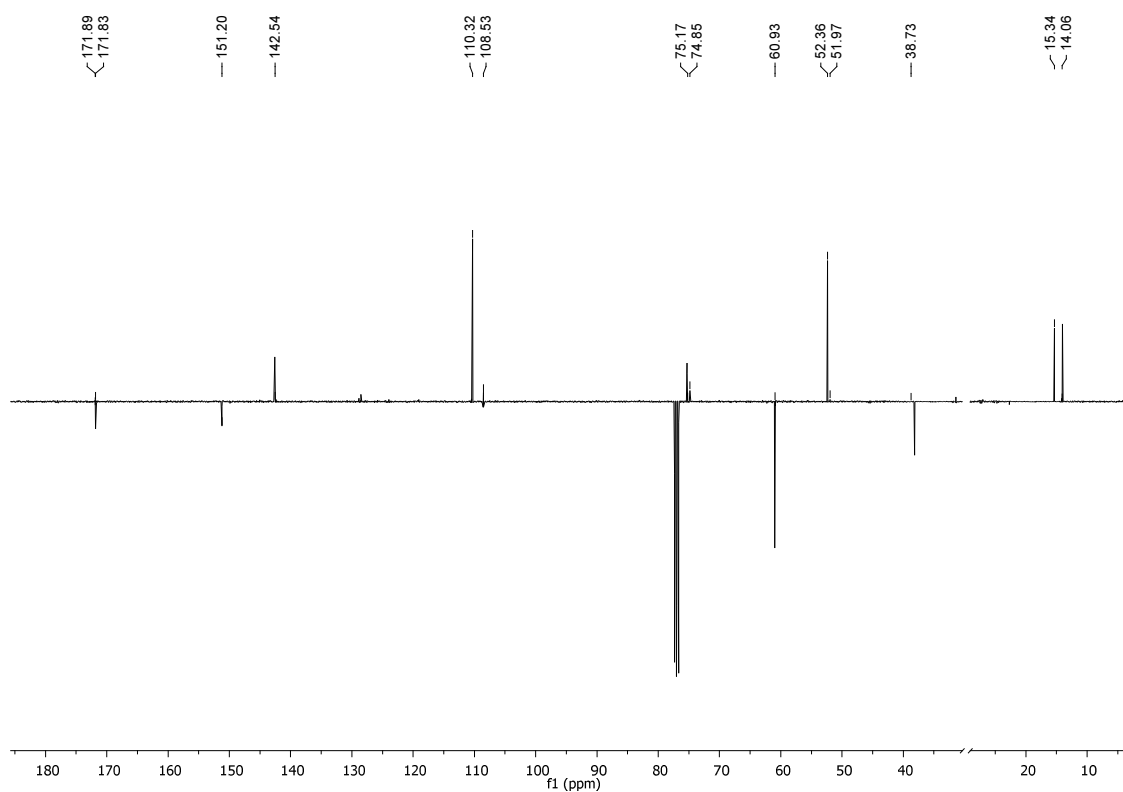


Spettro  $^1\text{H}$  NMR del composto **29h**

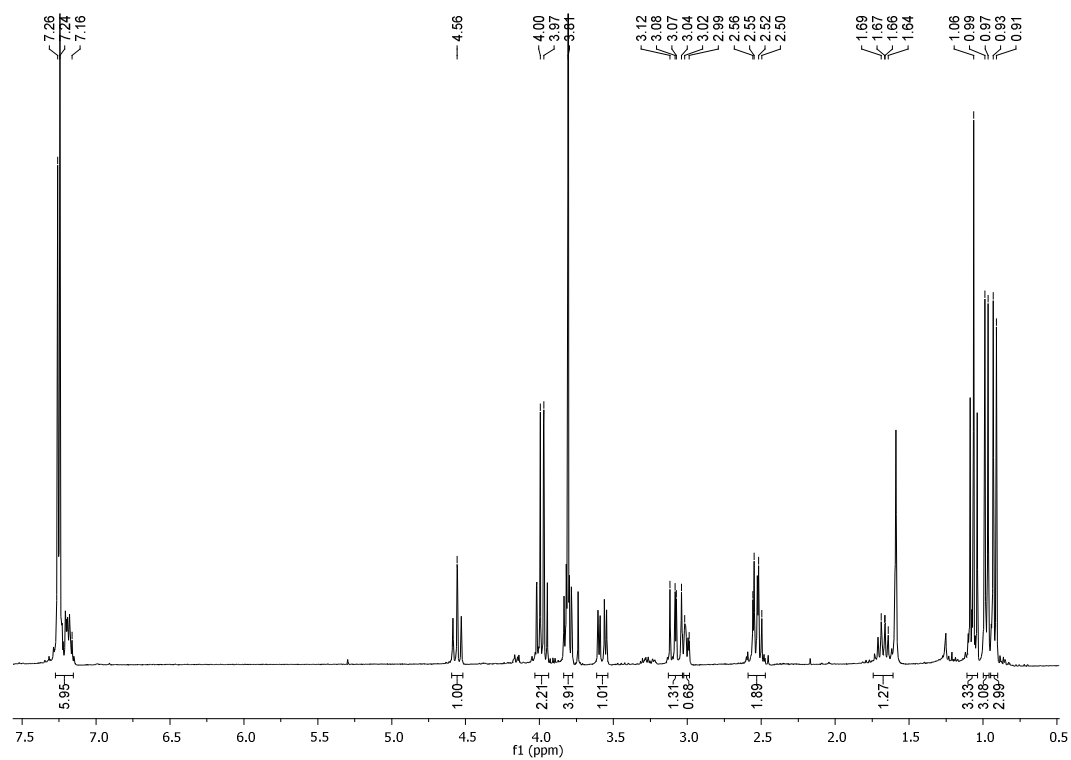




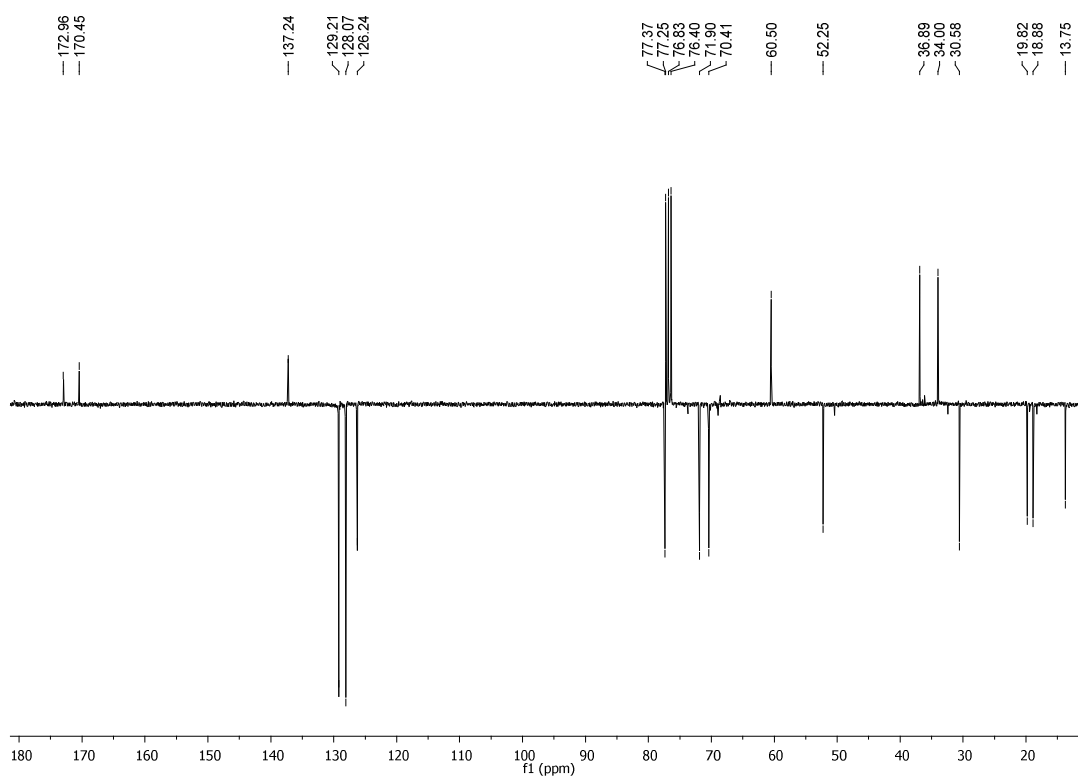
Spettro  $^{13}\text{C}$  NMR del composto **29h**



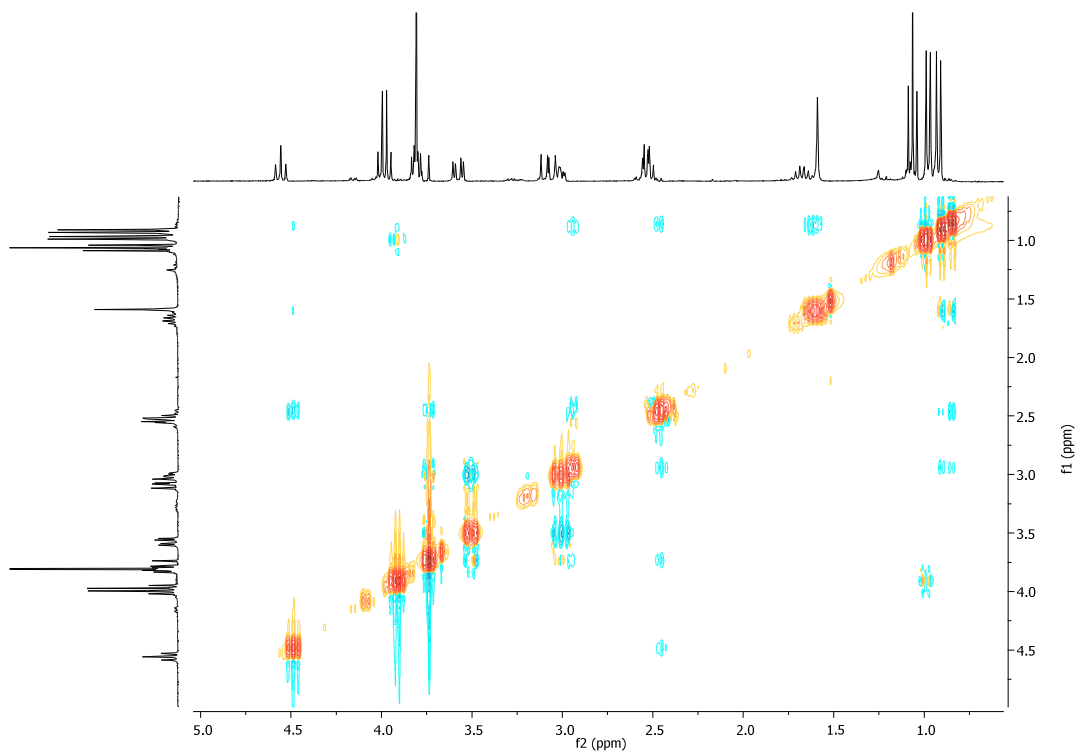
Spettro  $^1\text{H}$  NMR del composto **29i**



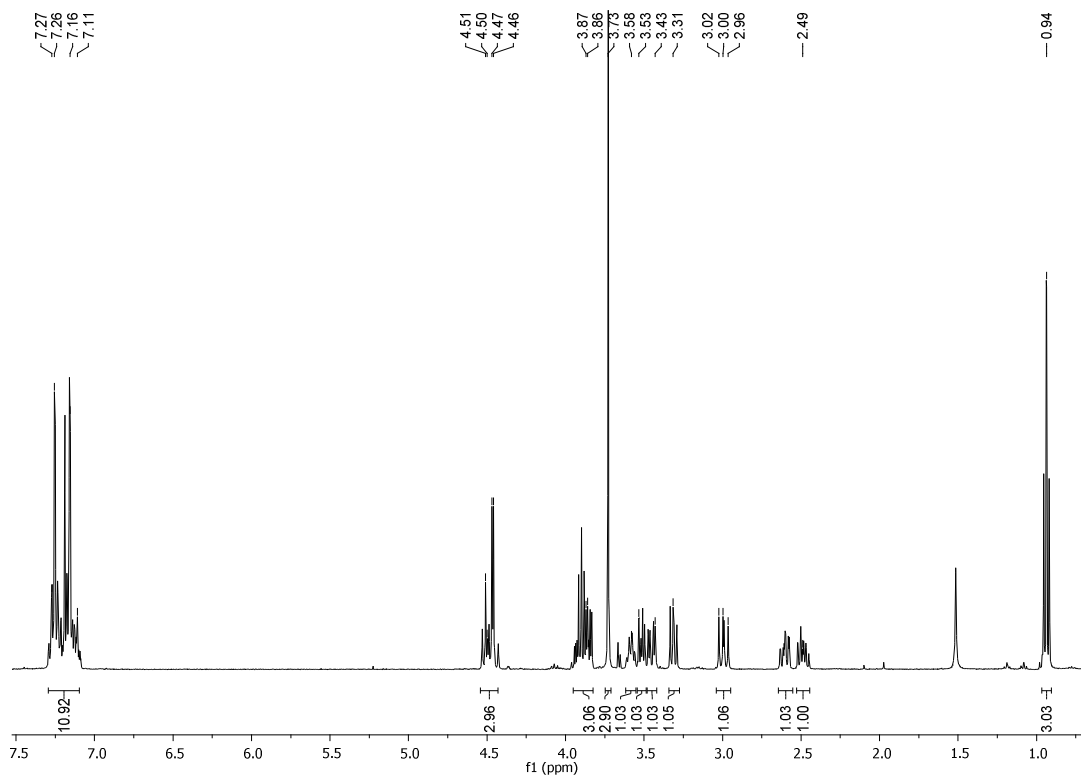
# Spettro $^{13}\text{C}$ NMR del composto **29i**



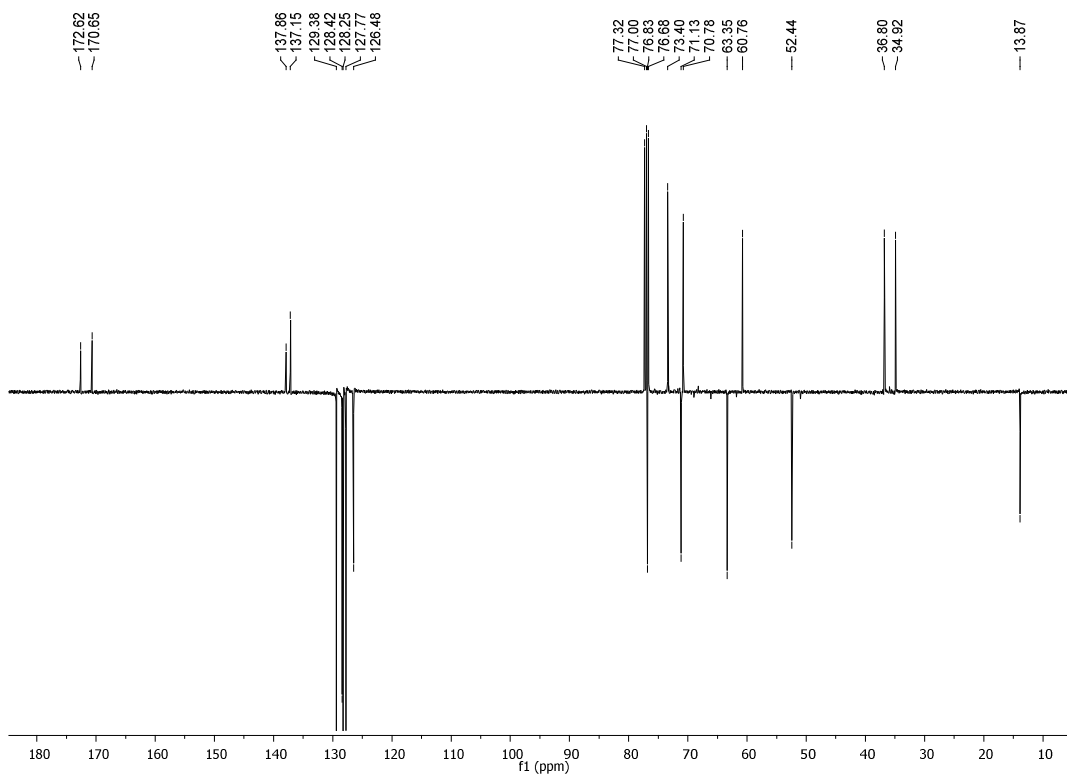
# Spettro 2D-NOESY del composto **29i**



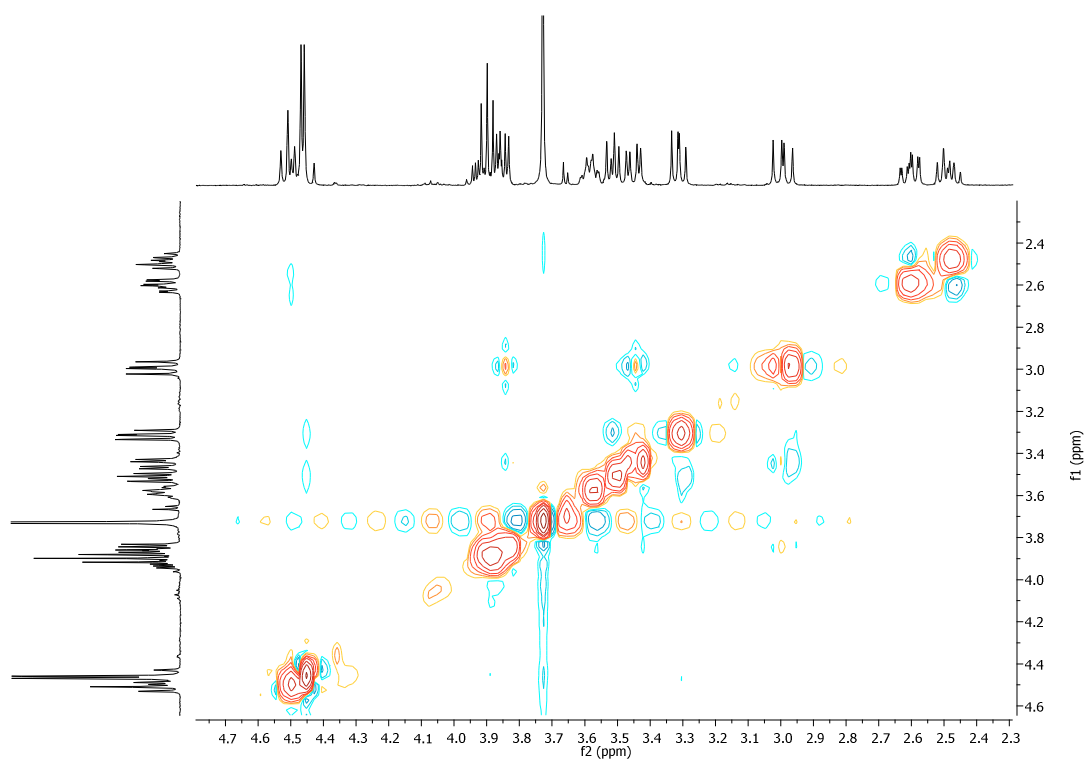
# Spettro $^1\text{H}$ NMR del composto **29l**



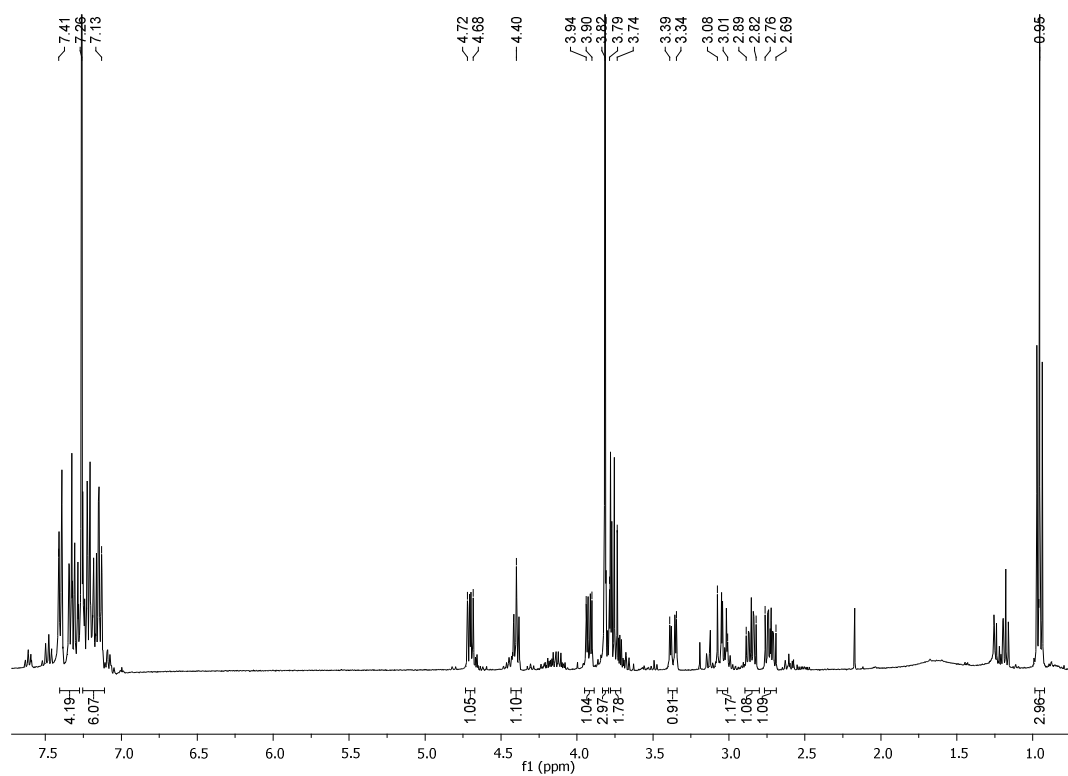
# Spettro $^{13}\text{C}$ NMR del composto **29l**



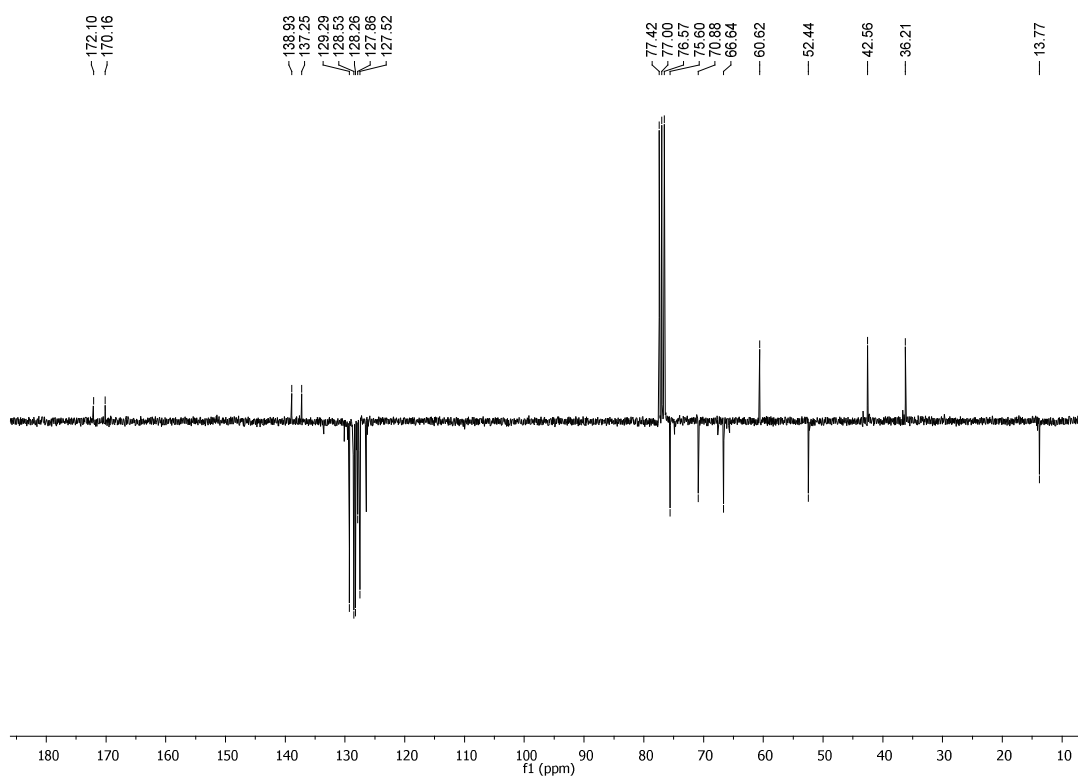
Spettro 2D-NOESY del composto **29l**



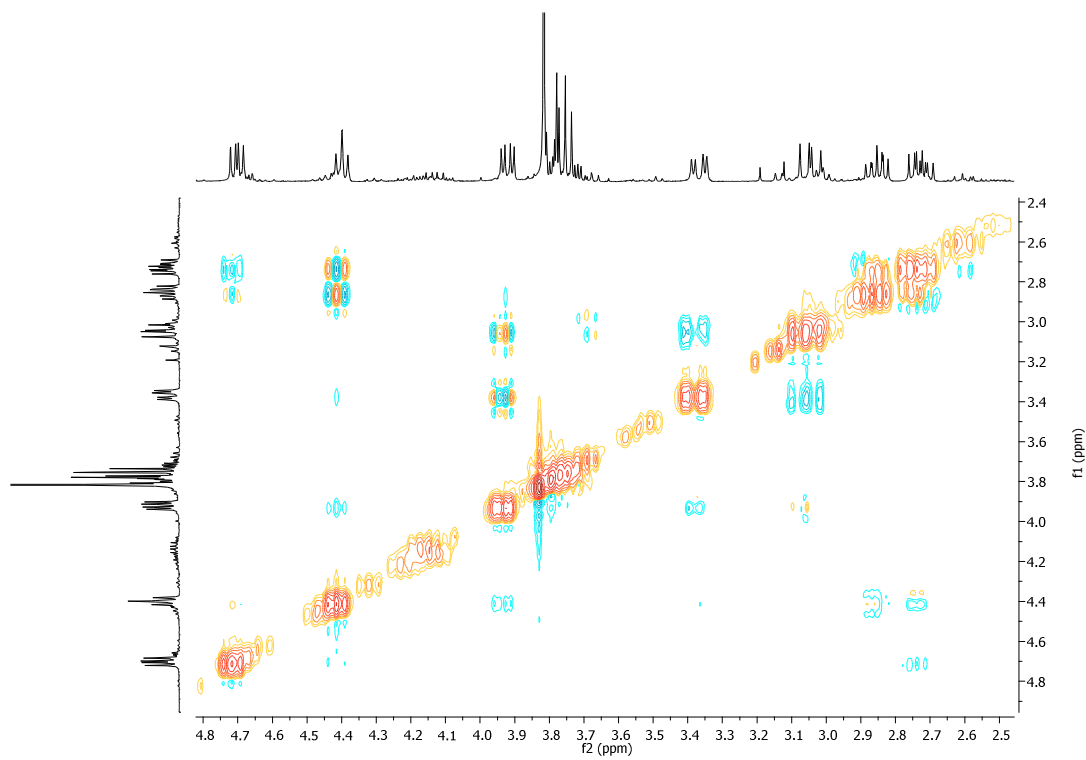
Spettro  $^1\text{H}$  NMR del composto **29m**



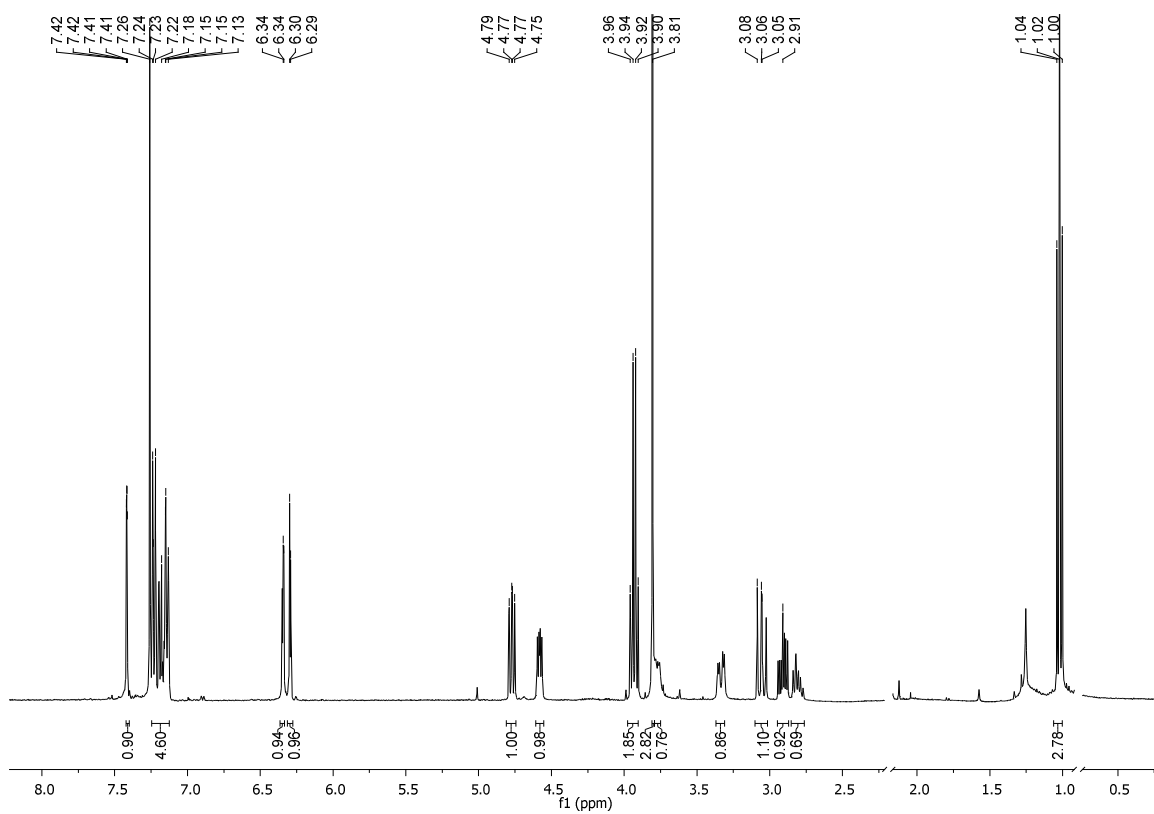
# Spettro $^{13}\text{C}$ NMR del composto **29m**



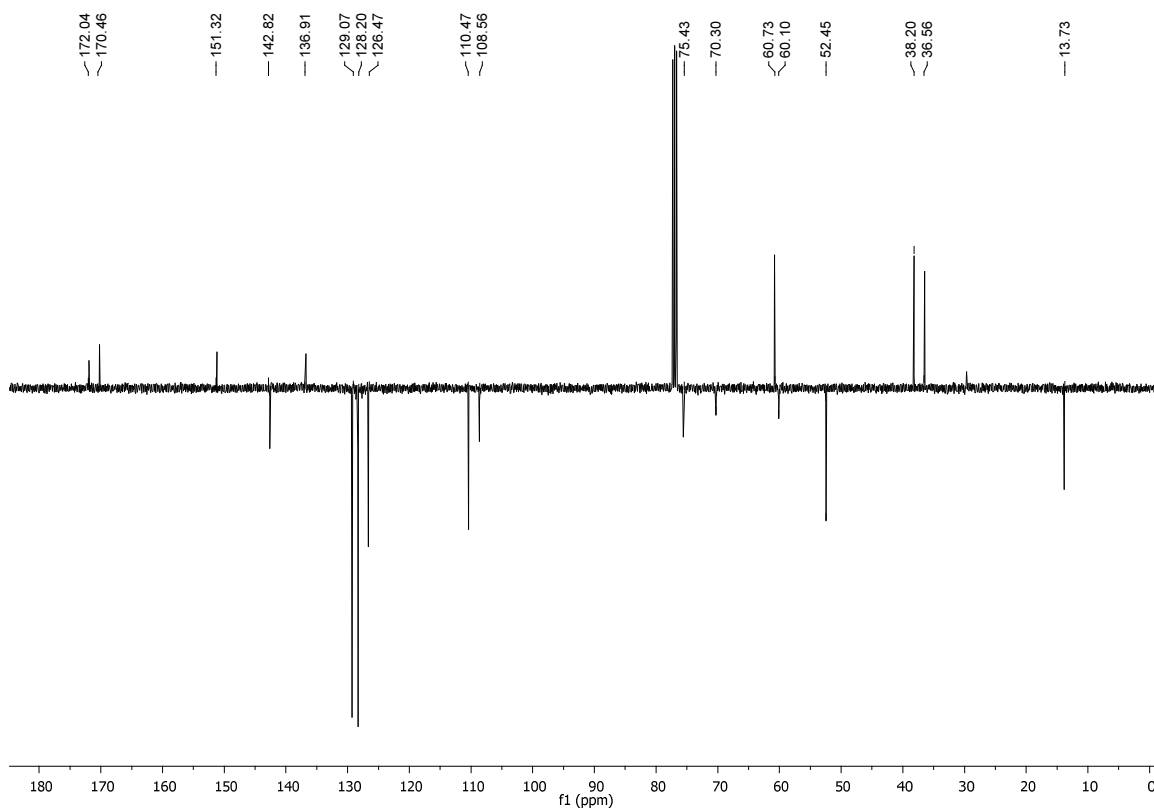
# Spettro 2D-NOESY del composto **29m**



Spettro  $^1\text{H}$  NMR del composto **29n**



Spettro  $^{13}\text{C}$  NMR del composto **29n**



[illegible]

B3LYP/6-311+G\*\*//B3LYP/6-31G\*

27a	E(0)	ΔE(0)	E	ΔE	H	ΔH	G	ΔG	ΔG rel.	inv. barrier
Me Acrylate	-306.445118		-306.438642		-306.437698		-306.475408			
Nitron CH(Me)OO2Me	-515.590151		-515.578919		-515.577975		-515.627400			
Products	-822.035269		-822.017561		-822.015673		-822.102808			
TS35nRe	-822.024007	7.07	-822.006359	7.03	-822.005415	6.44	-822.069289	21.05	0.00	
TS35nSi	-822.021822	8.44	-822.004228	8.37	-822.003284	7.77	-822.067220	22.33	1.29	
TS35xRe	-822.021898	8.39	-822.004287	8.33	-822.003343	7.74	-822.067509	22.15	1.10	
TS35xSi	-822.019582	9.84	-822.001983	9.78	-822.001039	9.18	-822.065070	23.68	2.63	
TS34nRe	-822.022635	7.93	-822.005108	7.81	-822.004164	7.22	-822.067814	21.96	0.91	
TS34nSi	-822.022361	8.10	-822.004811	8.00	-822.003867	7.41	-822.067501	22.16	1.11	
TS34xRe	-822.017415	11.20	-821.999898	11.08	-821.998954	10.49	-822.062815	25.10	4.05	
TS34xSi	-822.018396	10.59	-822.000792	10.52	-821.999848	9.93	-822.063771	24.50	3.45	
P35SiR	-822.067080	-19.96	-822.048166	-20.42	-822.047222	-21.01	-822.111883	-5.69	0.00	26.74
P35FS	-822.065139	-18.74	-822.048166	-19.20	-822.047222	-19.80	-822.109555	-4.48	1.21	26.82
P35SS	-822.066429	-19.55	-822.049533	-20.06	-822.048589	-20.66	-822.111340	-5.35	0.34	27.50
P35RR	-822.063785	-17.89	-822.046924	-18.43	-822.045979	-19.02	-822.108544	-3.60	2.10	27.28
P34SiR	-822.066036	-19.31	-822.049092	-19.79	-822.048148	-20.38	-822.110669	-4.93	0.76	26.89
P34FS	-822.065418	-18.92	-822.048469	-19.40	-822.047525	-19.99	-822.109972	-4.50	1.20	26.65
P34SS	-822.067078	-19.96	-822.050276	-20.53	-822.049332	-21.12	-822.111571	-5.50	0.20	30.59
P34RR	-822.067284	-20.09	-822.050436	-20.63	-822.049492	-21.22	-822.111791	-5.64	0.06	30.13

11

11	E(0)	ΔE(0)	E	ΔE	H	ΔH	G	ΔG	ΔG rel.	inv. barrier
Su Acrylate	-1106.672156		-1106.658314		-1106.657369		-1106.712249			
Nitron CH2OO2Me	-476.293076		-476.283155		-476.282211		-476.328878			
Products	-1582.965232		-1582.941469		-1582.939590		-1583.041127			
TS35nRe	-1582.949137	10.10	-1582.925395	10.09	-1582.924451	9.49	-1583.002396	24.30	1.41	
TS35nSi	-1582.949497	9.87	-1582.925666	9.92	-1582.924721	9.32	-1583.003196	23.80	0.91	
TS35xRe	-1582.948245	10.66	-1582.924476	10.66	-1582.923532	10.07	-1583.001658	24.77	1.88	
TS35xSi	-1582.949081	10.13	-1582.925255	10.17	-1582.924311	9.58	-1583.002915	23.98	1.09	
TS34nRe	-1582.951449	8.65	-1582.927735	8.62	-1582.926791	8.03	-1583.004649	22.89	0.00	
TS34nSi	-1582.951162	8.83	-1582.927444	8.80	-1582.926500	8.21	-1583.004604	22.92	0.03	
TS34xRe	-1582.948190	10.69	-1582.924457	10.68	-1582.923513	10.08	-1583.001321	24.98	2.09	
TS34xSi	-1582.950367	9.33	-1582.926620	9.32	-1582.925676	8.72	-1583.003750	23.45	0.56	
P35SiR	-1582.997362	-20.16	-1582.974203	-20.54	-1582.973259	-21.13	-1583.050002	-5.57	0.21	29.87
P35FS	-1582.995771	-19.16	-1582.972536	-19.49	-1582.971592	-20.09	-1583.048858	-4.85	0.93	28.65
P35SS	-1582.984753	-12.25	-1582.961529	-12.59	-1582.960595	-13.18	-1583.037860	-2.05	7.83	22.72
P35RR	-1582.997378	-20.17	-1582.974508	-20.73	-1582.973563	-21.32	-1583.049313	-5.14	0.64	29.12
P34SiR	-1582.994924	-18.63	-1582.971715	-18.98	-1582.970771	-19.57	-1583.047778	-4.17	1.60	27.06
P34FS	-1582.990638	-9.67	-1582.957587	-10.11	-1582.956643	-10.71	-1583.033135	5.02	10.79	17.90
P34SS	-1582.997623	-20.33	-1582.974538	-20.75	-1582.973654	-21.57	-1583.050333	-5.78	0.00	30.76
P34RR	-1582.995275	-18.85	-1582.972188	-19.28	-1582.971243	-19.87	-1583.048051	-4.34	1.43	27.80



## M06-2X/6-311+G\*\*//B3LYP/6-31G\*

27a	E(0)	$\Delta E(0)$	E	$\Delta E$	H	$\Delta H$	G	$\Delta G$	$\Delta G$ rel.	inv. barrier
Me Acrylate	-306,308985		-306,302696		-306,301752		-306,333955			
Nitrone CH <sub>3</sub> MeOOCMe	-515,363380		-515,352802		-515,351658		-515,399380			
Products	-821,672365		-821,655298		-821,653410		-821,738335			
TS35nRe	-821,675592	-2,02	-821,658515	-2,02	-821,65751	-2,72	-821,719235	11,99	0,81	
TS35nSi	-821,672903	-0,34	-821,655811	-0,32	-821,654867	-0,91	-821,716713	13,57	2,39	
TS35xRe	-821,671603	0,48	-821,654610	0,43	-821,653666	-0,16	-821,715380	14,40	3,23	
TS35xSi	-821,669850	1,58	-821,651781	2,21	-821,651836	0,99	-821,713674	15,48	4,30	
TS34nRe	-821,676113	-2,35	-821,659182	-2,44	-821,658238	-3,03	-821,719696	11,70	0,52	
TS34nSi	-821,676903	-2,85	-821,659917	-2,90	-821,658973	-3,49	-821,720526	11,18	0,00	
TS34xRe	-821,672136	0,14	-821,655225	0,05	-821,654280	-0,55	-821,715706	14,20	3,02	
TS34xSi	-821,672498	-0,08	-821,655508	-0,13	-821,654564	-0,72	-821,716136	13,93	2,75	
P35SR	-821,734265	-38,84	-821,717842	-39,25	-821,716897	-39,84	-821,777319	-24,46	0,44	36,45
P35RS	-821,732491	-37,73	-821,715991	-38,02	-821,714947	-38,62	-821,775804	-23,51	1,39	37,08
P35SS	-821,732420	-37,69	-821,716158	-38,19	-821,715213	-38,78	-821,775567	-23,36	1,54	37,77
P34FR	-821,729982	-36,16	-821,713771	-36,69	-821,712827	-37,28	-821,772882	-21,68	3,22	37,15
P34SR	-821,734703	-39,12	-821,718321	-39,55	-821,717377	-40,14	-821,777742	-24,73	0,17	36,42
P34RS	-821,734409	-38,93	-821,717824	-39,24	-821,716880	-39,83	-821,777811	-24,77	0,13	35,95
P34SS	-821,735111	-39,37	-821,718889	-39,90	-821,717945	-40,50	-821,778017	-24,90	0,00	39,10
P34FR	-821,734604	-39,06	-821,718285	-39,52	-821,717341	-40,12	-821,777611	-24,65	0,25	38,58

11

11	E(0)	$\Delta E(0)$	E	$\Delta E$	H	$\Delta H$	G	$\Delta G$	$\Delta G$ rel.	inv. barrier
Su Acrylate	-1106,358407		-1106,344909		-1106,343965		-1106,397708			
Nitrone CH <sub>2</sub> OCOCMe	-476,085346		-476,075672		-476,074728		-476,120257			
Products	-1582,443753		-1582,420581		-1582,418688		-1582,517965			
TS35nRe	-1582,442397	0,47	-1582,419768	0,51	-1582,418824	-0,08	-1582,494459	14,75	3,00	
TS35nSi	-1582,440331	2,15	-1582,417195	2,12	-1582,416250	1,53	-1582,491584	16,55	4,80	
TS35xRe	-1582,438983	2,99	-1582,415894	2,94	-1582,414950	2,35	-1582,490071	17,50	5,75	
TS35xSi	-1582,438716	3,16	-1582,415592	3,13	-1582,414648	2,54	-1582,489996	17,55	5,80	
TS34nRe	-1582,448394	-2,91	-1582,425364	-3,00	-1582,424420	-3,59	-1582,499236	11,75	0,00	
TS34nSi	-1582,447539	-2,38	-1582,424458	-2,43	-1582,423514	-3,03	-1582,498662	12,11	0,36	
TS34xRe	-1582,445518	-1,11	-1582,422448	-1,17	-1582,421504	-1,76	-1582,496382	13,54	1,79	
TS34xSi	-1582,496518	-34,37	-1582,424424	-2,41	-1582,423480	-3,00	-1582,498518	12,20	0,45	
P35SR	-1582,505596	-38,81	-1582,483035	-39,19	-1582,480090	-38,53	-1582,556095	-23,93	1,54	38,68
P35RS	-1582,504375	-38,04	-1582,481807	-38,42	-1582,480863	-39,01	-1582,555084	-23,29	2,17	39,85
P35SS	-1582,489736	-28,85	-1582,467244	-29,28	-1582,466299	-29,87	-1582,540269	-14,00	11,47	31,50
P34FR	-1582,506627	-40,71	-1582,486404	-41,30	-1582,485460	-41,90	-1582,558545	-25,46	0,00	43,02
P34SR	-1582,505389	-38,68	-1582,482802	-39,04	-1582,481858	-39,64	-1582,556019	-23,88	1,59	35,63
P34RS	-1582,489765	-28,87	-1582,467491	-29,44	-1582,466547	-30,03	-1582,539794	-13,70	11,77	25,81
P34SS	-1582,506272	-39,23	-1582,483973	-39,78	-1582,483029	-40,37	-1582,556391	-24,11	1,35	37,66
P34FR	-1582,503675	-37,60	-1582,481344	-38,13	-1582,480400	-38,72	-1582,553972	-22,59	2,87	34,80



## 7. Bibliografia

1. Watson, J.D.; Krick, F.H. *Nature* **1953**, 171, 737.
2. (a) Alberts, B.; Bray, D.; Lewis, J.; Raff, M.; Roberts, K.; Watson, J. D., *Molecular Biology of the cell* **2002**, 4th ed. (New York: Garland). b) Lewin, B.; *Genes VII* **2000**, (New York: Oxford University Press).
3. Marmur, J. et al., *Prog. Nuc. Acid. Res.* **1963**, 1, 231.
4. (a) Zamecnik, P.C.; Stephenson M.L., *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1978** 75, 280; b) Wagner, R.W. *Nature*, **1994**, 372, 333; (c) (b) Cook, P.D.; Crooke ST, LebleuB. (Eds), *Antisense Research and Application*, CRC, **1993**.
5. [Sheng Li Ke Xue Jin Zhan](#) **1997** , 28, 214-8.
6. Baldrich, E. and O'Sullivan, C.K. *Analytical Biochemistry*, **2005**, 341, 194-197.
7. Sproat, B.S.; Lamond, A.I.; Crooke, S.T.; LebleuB. (Eds), *Antisense Research and Application*, CRC, **1993**. b) Prakash, T.P.; Balkrishen, B., *Curr. Top. Med. Chem.*, **2007**, 7, 641-49.
8. Summerton, J. Weller, D. *Antisense Nucl. Acid Drug Dev.*, **1997**, 7, 187-95.
9. Wiegand, T.W.; Williams, P.B.; Dreskin, S.C.; Jouvin, M-H; Kinet, J-P and Tasset, D.; *J. immunology* **1996**;157, 231-8.
10. Tuerk, C. and Gold, L.; *Science*, **1990**, 249, 505-10.
11. Bock, L.C.; Griffin, L.C.; Latham, J.A.; Vermaas, E.H. and Toole, J.J.; *Nature*, **1992**, 355, 564-566.
12. Rogers, S. J.; Pratt, C.W.; Whinna, H.C. and Church, F.C.; *J. Biol. Chem.*; **1992**, 267, 3613-17.
13. Dyson, M.R., Coe, P.L. and Walker, R.T. *J. Med. Chem.*, **1991**, 34, 2782–2786. Dyson, M.R., Coe, P.L. and Walker, R.T. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, **1991**, 741–742. Secrist III, J.A., Tiwari, K.N., Riordan, J.M. and Montgomery, J.A. *J. Med. Chem.*, **1991**, 34, 2361–2366.
14. Jones, G. D.; Lesnik, E., A.; Owens, S., R.; Risen, L. M; Walker, R.T.; *Nucleic Acids Research*, **1996**,. 24, No. 21, 4117–4122.
15. Matsugami, A.; Ohyama, T.; Inada, M.; Inoue, N.; Minakawa, N.; Matsuda, A.; Katahira, M.; *Nucleic Acids Research*, **2008**, 36, 6, 1805–1812.

16. Jensen, K.B.; Green, L.; Mac Dougal-Waugh, S. and Tuerk, C.; *J. Mol. Biol.*, **1994**, 235, 237-47.
17. Uhlman, E.; Peyman, A.; Chem. Rev. **1990**, 90, 543; b) Miller, P.S.; Ts'O, P.O.P.; Hogrefe, R.I.; Reynolds, M.A.; Arnold, L.I. *Antisense Research and Application*, **1993**, 120.
18. Cohen, J.S.; Crooke, S.T.; Lebleu, B. (Eds), *Antisense Research and Application*, CRC, **1993**; b) Crooke, R.M.; Crooke, S.T.; Lebleu, B. (Eds); *Antisense Research and Application*, CRC, **1993**; c) Stein, C.A. Cheng, Y.C. Science, **1993**, 261, 1004.
19. Campbell, J.M.; Bacon, T.A.; Wickstrom, E. *J. Biochem. Biophys. Methods*, **1990**, 20, 259.
20. W.J.; Wilk, A. *Angew. Chem. Intl.*, **1994**, 33,709.
21. Loke, L.S.; Stein, C.A.; Zang, X.H.; Mori, K.; Nakanisci, M.; Subasinghe, C.; Cohen, J.S.; Nekers, L.M. *Procl. Natl. Acad. Sci USA*, **1989**, 86, 3474; b) Crooke, R.M. *Anti-Cancer Drug Design*, **1991**, 6, 609; c) Jarosewski, J.W.; Cohen, J.S. *Adv .Drug. Deliv. Rev.*, **1991**, 6, 235. d) Chin, D.J.; Green, G.A.; Zon, G.; Szoka, F.G.; Straubinger, R.M. *New Biologist*, **1990**, 2, 1091.
22. ShinozuKa, K.; Zon, G.; Mitsuya, H.; Reitz, M.; Cohen, J.S.; Broder, S. *Proc. Natl. Acad. Sci, USA*, **1987**, 84, 7706.
23. Marshall, W.S.; Caruthers, M.H.; Science, **1993**, 259, 1564.
24. a)Tilley LD, Mellbye BL, Puckett SE, *J. Antimicrob Chemother* **2007**, 59, 66-73; (b) Summerton, J.Weller, D. *Antisense Nucl. Acid Drug Dev.*, **1997**, 7, 187-95.
25. Summerton, *J. Innovation in Pharmeceutical Technology*, **2005**, 17.
26. a)Summerton, *J. Biochemica et Biophysica Acta*, **1999**, 1, 489, 141; b) Summerton, *J. Letters in Peptide science*, **2004**, 10, 215.
27. a)Singh, S.K.; Nielsen, P.; Koshkin, A.A.; Wengel, J. *Chem. Commun.*, **1998**, 455; b) Koshkin, A.A.; Singh, S.K.; Nielsen, P.; Rajwanshi, V.K.; Kumar, R.; Meldgaard, M.; Olsen, C.E.; Wengel, J. *Tetrahedron*, **1998**, 54, 3607; c) Toulme, J.J. *Nat. Biotechnol*, **2001**, 19, 17-18.
28. Kerreck, J.; Wyszko, E.; Gillen, C.; Erdmann, V.A. *Nucleic Acids Res.*, **2002**, 30 (9), 1911-18.
29. Nielsen,P.E.; Egholm, M.; Berg, R.H.; Buchardt, O.; Crooke ST, LebleuB. (Eds), *Antisense Research and Application*, CRC, **1993**.
30. Nielsen,P.E.; Egholm, M.; Berg, R.H.; Buchardt, O. Science, **1991**, 254, 1497.

31. Merino, P.; Tejero, T.; Matès, J.; Chiacchio, U.; Corsaro, A.; Romeo, G. *Tetrahedron Asymmetry* **2007**, 18, 1517.
32. Egholm, M.; Buchardt, O.; Nielsen, P.E. *J. Am. Chem. Soc.*, **1992**, 114, 1895-1897.
33. Egholm, M.; Buchardt, O.; Nielsen, P.E. *J. Am. Chem. Soc.*, **1992**, 114, 1895-1897.
34. Hanvey, J.C.; Pepper, N.J.; Bisi, J.E.; Thomson, S.A.; Cadilla, R.; Josey, J.A.; Ricca, D.J.; Hassman, C.F.; Bonham, M.A.; Au, K.G.; Carter, S.G.; Buckenstein, D.A.; Boyd, A.L.; Noble, S.A.; Bassis, L.E. *Science*, **1992**, 258, 1481.
35. Nielsen, P.E.; Egholm, M.; Berg, R.H.; Buchardt, O. *Proceeding of the Intl. Conference on Nucleic Acids Application, Cancun, Jan.*, **1993**, 26-30.
36. Ray, A.; Nordén, B. *FASEB*, **2000**, 14, 1041-1060.
37. Nielsen, P.E. *Current Opinion in Biotechnology*, **1999**, 10, 71.
38. Ørum, H.; Nielsen, P.E.; Egholm, M.; Berg, R.H.; Buchardt, O.; Stanley, C. *Nucleic Acid Res*, **1993**, 21, 5332.
39. Kyger, E.M.; Krevolin, M.D.; Powell, M.J. *Anal Biochem*, **1998**, 260, 142.
40. Igloi, G.L. *Biotechniques*, **1999**, 27, 798.
41. Griffin, T.J.; Tang, W.; Smith, L.M. *Nature Biotech*, **1997**, 15, 1368.
42. Wang, J.; Rivas, G.; Cai, X.; Chicharro, M.; Parrado, C.; Dontha, N.; Begleiter, A.; Mowat, M.; Palecek, E.; Nielsen, P.E. *Anal Chim Acta*, **1997**, 344, 111.
43. Wang, J. *Biosensors & Bioelectron*, **1998**, 13, 757.
44. Svanvik, N.; Nygren, J.; Westman, G.; Kubista, M. *J Am Chem Soc*, **2001**, 123, 803.
45. Englund, E.A.; Appella, D.H. *Organic Letters*, **2005**, 7, 3465-3467.
46. Feriotto, G.; Corradini, R.; Sforza, S.; Mischiati, C.; Marchelli, R.; Gambari, R. *Lab Inv*, **2001**, 81, 1415
47. Hyrup, B.; Nielsen, P.E.; *Bioorg. Med. Chem*, **1996**, 4, 5-23.
48. Haaima, G.; Rasmussen, H.; Schmidt, G. *New J. Chem.*, **1999**, 23, 833-840.
49. Faruqi, A.F.; Egholm, M.; Blazer, P.M. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1997**, 95, 1398-1403.
50. Fisher, T.L.; Terhorst, T.; Cao, X.; Wagner, R.W. *Nucleic Acids Res.*, **1993**, 21, 3857-3865.

51. (a) Bergan, R.; Connell, Y.; Fahmy, B.; Neckers, L. *Nucleic Acids Res.*, 1993, 21, 3567-3573. b) Liu, Y.; Bergan, R. *Antisense Nucleic Acid Drug Dev.*, **2001**, 11, 7-14.
52. (a) Nielsen, P.E. *Export Opin. Invest. Drugs*, **2001**, 10, 331-341. b) Sei, S.; Yang, Q.E.; O'Neil, D. J. *Virol.*, **2000**, 74, 4621-4633.
53. Boffa, L.C.; Scarfi, S.; Mariani, M.R. *Cancer Res.*, **2000**, 60, 2258.
54. Lebedeva, I.; Benimetskaya, L.; Stein, C.A.; Vilenchik, M. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **2000**, 50, 101-119.
55. Mann, D.A.; Frankel, A.D. *EMBO J.*, **1991**, 10, 1733-1739.
56. (a) Derossi, D.; Joliot, A.H.; Chassaing, O. *J. Biol. Chem.*, **1994**, 269, 10444-10050. b) Vivés, E.; Brodin, P.; Lebleu, B. *J. Biol. Chem.*, **1997**, 272, 16010-16017.
57. (a) Scarfi, S.; Giovine, M.; Millo, E.; Benatti, U. *Minerva Biotecnologia*, **1999**, 11, 221. b) Scarfi, S.; Gasparini, A.; Damonte, G.; Benatti, U. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **1997**, 236, 323.
58. Kumar, V.A.; Ganesh, K.N., *Acc. Chem. Res.* **2005**, 38, 404-412.
59. Puschl, A.; Boesen, T.; Zuccarello, G.; Dahl, O.; Pitsch, S.; Nielsen, P. E. *J. Org. Chem.* **2001**, 66, 707.
60. Kumar, V.A.; Costa, M.; Lonkar, P.S.; Pallan, P.S.; Ganesh, K.N. *Pure Appl. Chem.* **2004**, 76, 1599-1603.
61. Tan, T.H.S.; Hickman, D.J.; Morral, G.; Beadham, I.G.; Micklefield, J. *Chem. Commun.* **2004**, 516-517.
62. Tan, T. H. S.; Worthington, R. J. ; Pritchard, R. G.; Morral J. ; Micklefield, J. *Org. Biomol. Chem.*, **2007**, 5, 239-248.
63. Puschl, A.; Tedeschi, T.; Nielsen, P.E. *Org. Lett.* **2000**, 26, 4161-4163.
64. D'Costa, M.; Kumar, V. A.; Ganesh, K. N. *J. Org. Chem.* **2003**, 68, 4439.
65. Meena, Kumar, V. A. *Bioorg. Med. Chem.* **2003**, 11, 3393.
66. Merino, P.; Tejero, T.; Matès, J.; Chiacchio, U.; Corsaro, A.; Romeo, G. *Tetrah. Asym.* 18, **2007**, 1517-1520.
67. Sustmann, R. *Tetrahedron Lett.* **1971**, 2717, b) Sustmann, R. *Pure Appl. Chem.* **1974**, 40, 569.

68. Tice, C. M.; Ganem, B.; *J. Org. Chem.*, 48, 5048 (1983).
69. (a) Vasella, A., *Helv. Chim. Acta*, 60, 1273 (1977). b) Huber, R.; Vasella, S. *Tetrahedron*, 46, 33 (1990).
70. Oppolzer, W. *Tetrahedron* 1987, 43, 1969.
71. Tejero, T.; Dondoni, A.; Rojo, I.; Merchan, F. L.; Merino, P. *Tetrahedron* 1997, 53, 3301.
72. Gothelf, K. V.; Jørgensen, K. A. *J. Org. Chem.* 1994, 59, 5687.
73. Seerden, J. P. G.; Scholte op Reimer, A. W. A.; Scheeren, H. W. *Tetrahedron Lett.* 1994, 35, 4419.
74. (a) Sartor, D.; Saffrich, J.; Helmchen, G. *Synlett* 1990, 197. b) Corey, E. J.; Loh, T.-P.; Roper, T. D.; Azimioara, M. D.; Noe, M. C. *J. Am. Chem. Soc.* 1992, 114, 8290.
75. Merino, P.; Revuelta, J.; Chiacchio, U.; Rescifina, A.; Piperno, A.; Romeo, G. *Tetrahedron Asymmetry* 2002, 13, 167.
76. Merino, P.; Anoro, S.; Franco, S.; Merchan, F.L.; Tejero, T. *J. Org. Chem.* 2000, 65, 1590.
77. Lee, J.Y.; Chung, Y.J.; Kim, B.H. *Synlett*, 1994, 3, 197-198.
78. Dale, J., A.; Mosher, H., S. *J. Am. Chem. Soc.*, 1968, 3732. Dale, J., A.; Dull, D., L., Mosher, H., S.. *J. Org. Chem.*, 1969, 2543.
79. Ohtani, I.; Kusumi, T., Kashman, Y., Kakisawa, H.. *J. Am. Chem. Soc.*, 1991, 4092.
80. (a) Hubregtse, T.; Hanefeld, U.; Arends, I.; *Eur. J. Org. Chem.* 2007, 2413–2422; (b) Hubregtse, T.; Hanefeld, U.; Arends, I.; *Eur. J. Org. Chem.* 2007, 2413–2422
81. (a) Padwa, A.;Chiacchio, U.; Dean, D. C.; Schoffstall, A. M. *J. Org. Chem.* 1989, 54, 5277. (b) Chiacchio, U.; Corsaro, A.; Librando, V.; Rescifina, A.; Romeo, R.; Romeo, G. *Tetrahedron* 1996, 52, 14323. (c) Akritopoulou-Zanze, I.; Gracias, V.; Moore, J. D.; Djuric, S. W. *Tetrahedron Lett.* 2004, 45, 3421. (d) Park, K.-H.; Marshall, W. J. *Tetrahedron Lett.* 2004, 45, 4931. (e) Soro, Y.; Bamba, F.; Siaka, S.; Coustard, J.-M. *Tetrahedron Lett.* 2006, 47, 3315. (f) Shing, T. K. M.; Wong, Wai F.; Cheng, H. M.; Kwok, W. S.; So, K. H. *Organic Lett.* 2007, 9, 753. (g) Kadowaki, A.; Nagata, Y.; Uno, H.; Kamimura, A. *Tetrahedron Lett.* 2007, 48, 1823. (h) Kozikowski, A. P.; Park, P. U. *J. Org. Chem.* 1990, 55, 4668. (i) Ramachandiran, K.; Karthikeyan, K.; Muralidharan, D.; Perumal, P. T. *Tetrahedron Lett.* 2010, 51, 3006. (l) Shing, T. K. M.; So, K. H.; Kwok, W. S. *Organic Lett.* 2009, 11, 5070

82. (a) Hassner, A.; Dehaen, W. *J. Org. Chem.* **1990**, 55, 5505. (b) Yan, M.-C.; Liu, J.-Y.; Lin, W.-W.; Kao, K.-H.; Liu, J.-T.; Jang, J.-J.; Yao, C.-F. *Tetrahedron*, **1999**, 55, 12493.
83. Mukaiyama, T.; Hoshino, T. *J. Am. Chem. Soc.* **1960**, 82, 5339.
84. Kim, S. S.; Nehru, S. K.; Kim, S.; Kim, D. W.; Jung, H. C. *Synthesis*, **2002**, 2484.
85. Takahashi, M.; Daidouji, S.; Shiro, M.; Minakawa, N.; Matsuda, A. *Tetrahedron*, **2008**, 64, 4313.
86. Wiedemann, F.; Kampe, W.; Dietmann, K.; Sponer, G. *EP Patent* 42593, **1981**.
87. (a) Yoshimoto, S.; Ichikawa, M.; Hildreth, J. E. K.; Ichikawa, Y. *Tetrahedron Lett.* **1996**, 37, 2549; (b) Sears, P.; Wong, C. H. *Chem. Commun. (Cambridge)* **1998**, 11, 1161.



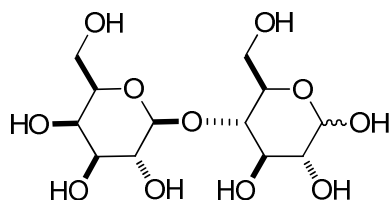
# **CAPITOLO 2**

## **Valorizzazione Chimica del Lattosio**

## 1. Introduzione

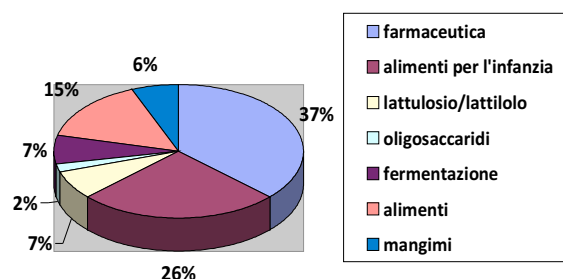
### 1.1. Il Lattosio

Il lattosio è un disaccaride formato da D-galattosio e D-glucosio uniti attraverso un legame  $\beta$ -1,4-glicosidico (Figura 1.1).



**Figura 1.1** *Lattosio*

In soluzione è presente nelle due forme anomeriche,  $\alpha$ - e  $\beta$ -lattosio, interscambiabili attraverso la mutarotazione. Il rapporto esistente fra le due forme e la velocità attraverso la quale si raggiungono l'equilibrio dipendono dalla temperatura e dalle sostanze presenti in soluzione. Entrambe le forme isomeriche possono essere isolate come solidi mediante cristallizzazione: l' $\alpha$ -lattosio cristallizza nella forma monoidrata da una soluzione di lattosio supersatura a circa 93.5 °C; al di sopra di questa temperatura si ottengono i cristalli di  $\beta$ -lattosio anidri. Il lattosio è una materia prima di notevole interesse, perché disponibile in grandi quantità a basso costo, poichè costituisce un prodotto di scarto dell'industria casearia, essendo il componente principale del siero del latte, il residuo liquido ottenuto nella produzione del formaggio e della caseina. E' usato tal quale in un grand numero di applicazioni, soprattutto farmaceutiche ed alimentari, ed una quantità abbastanza significativa è convertita in derivati altrettanto importanti, quali lattilolo, lattulosio e galatto-oligosaccaridi, usati come dolcificanti a basso valore energetico, o come prebiotici nei composti farmaceutici (Figura 1.2).



**Figura 1.2:** *Principali utilizzi del lattosio.*

Un ruolo rilevante del lattosio si riscontra nelle formulazioni farmaceutiche, dove è stata impiegato come eccipiente, e come materia prima per la preparazione di tensioattivi non ionici. Le molecole di tensioattivi non-ionici trovano inoltre vasto impiego in detergenti, cosmetici, e alimenti.

## **1.2. Valorizzazione chimica**

Una delle più interessanti caratteristiche chimiche del lattosio è quella di essere allo stesso tempo un rappresentante della classe dei derivati 4-*O*-protetti del D-glucosio e quella dei D-galattopiranosidi. Si può quindi pensare di trasferire in maniera sistematica sul lattosio le metodologie chimiche già note ed usate sui due singoli componenti monosaccaridici, a patto di possedere metodiche atte a differenziare in maniera efficace le due unità costituenti, al punto tale da assimilare l'una o l'altra unità, rispettivamente, ad un semplice gruppo protettivo. In confronto ad altri disaccaridi di origine industriale, come il cellobosio e il maltosio, costituiti da sole unità di D-glucopiranosio, la presenza di un gruppo ossidrilico assiale (OH-4) sull'unità D-galattopiranasidica del lattosio facilita i processi di protezione selettiva e di funzionalizzazione.

Sulla base di queste premesse, possono essere definiti i seguenti obiettivi generali per la valorizzazione chimica del lattosio:

- a. Modulazione delle proprietà chimico-fisiche di diversi farmaci per la realizzazione di profarmaci a base di lattosio.
- b. Semplificazione dell'iperfunzionalità chimica e stereochimica del lattosio in modo tale da accedere a molecole chirali più semplici e dotate di gruppi funzionali differenziati, che possono essere usate su scala medio-grande come intermedi chirali otticamente puri utili per la chimica fine e secondaria, o per preparare derivati biologicamente attivi.

Per quanto riguarda il punto *a*, la coniugazione dei farmaci con un sistema carrier costituito da molecole di monosaccaridi o disaccaridi può modificare alcune proprietà chimico-fisiche e biologiche del principio attivo legato. Queste variazioni possono tradursi in numerosi vantaggi, quali il miglioramento delle proprietà organolettiche dei farmaci, una migliore compliance da parte del paziente, la modificazione dell'idrosolubilità e l'aumento della stabilità chimica dei farmaci, l'aumento della biodisponibilità, la riduzione degli effetti collaterali, il rilascio controllato nel tempo e una migliore selettività d'organo.

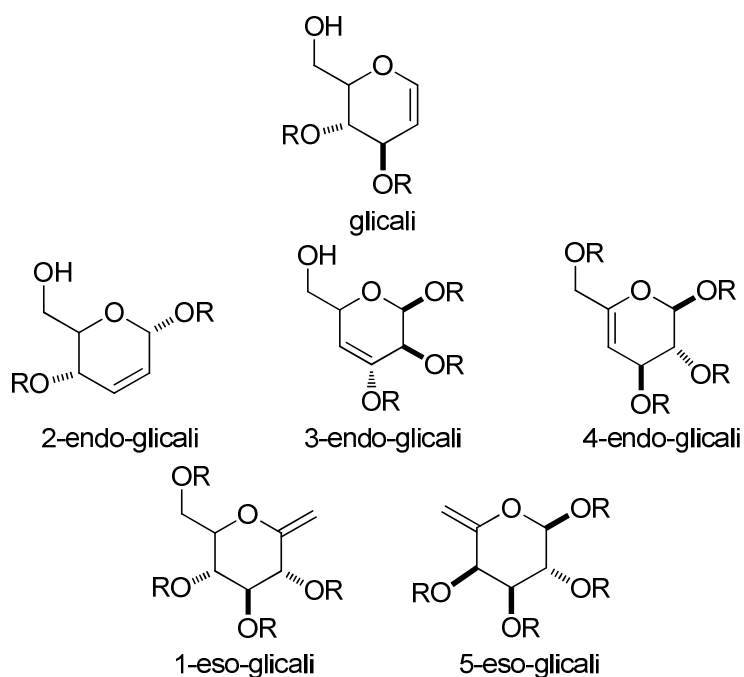
L'uso del lattosio come materiale di partenza per le applicazioni in chimica fine, come la sintesi di farmaci, trova i suoi principali punti di attrazione nel basso costo e nella

purezza enantiomerica. Uno degli svantaggi deriva invece dall'eccessiva funzionalizzazione, e dall'assenza di gruppi funzionali facilmente elaborabili.

### 1.3 Derivati insaturi del lattosio

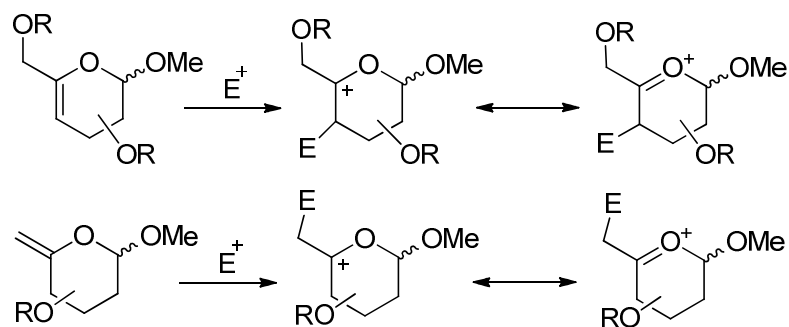
Il laboratorio di ricerca presso il quale ho svolto la mia tesi di dottorato da anni si interessa della chimica di derivati insaturi del lattosio.

Esistono diversi derivati insaturi dei carboidrati, noti, con il termine di “glicali” secondo le indicazioni IUPAC (Figura 1.3).<sup>1</sup>



**Figura 1.3:** *Glicali*

Le applicazioni sintetiche più diffuse riguardano gli 1,2-glicali, grazie alla loro ampia disponibilità commerciale. Al contrario, poco è noto riguardo la chimica dei derivati insaturi che presentano il doppio legame in posizione C<sub>2</sub>–C<sub>3</sub>,<sup>2</sup> i derivati 3,4-insaturi sono instabili, ed infine sui 4,5-glicali sono noti solo tre lavori.<sup>3</sup> L'introduzione del doppio legame nell'anello glicosidico permette una elevata funzionalizzazione attraverso varie manipolazioni. Sotto questo punto di vista, i composti più interessanti sono quelli che presentano la funzione enoleterea: l'ossigeno adiacente al doppio legame C=C influenza notevolmente la reattività di quest'ultimo ed i glicali risultano particolarmente suscettibili alle addizioni elettrofile, favorite dalla formazione dello ione ossonio, stabilizzato dalla risonanza, come mostrato nella Figura 1.4.



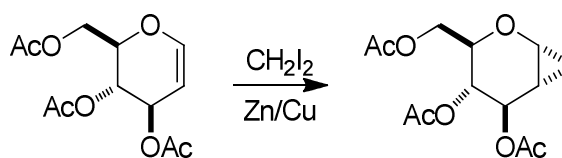
**Figura 1.4:** Stabilizzazione per risonanza dello ione ossonio.

Inoltre sul doppio legame dell'anello glicosidico è possibile introdurre un anello ciclopropanico ed i derivati ottenuti risultano molto utili dal punto di vista sintetico. I composti ciclopropanati presentano una elevata reattività, dovuta alla distorsione degli orbitali degli atomi di carbonio ibridizzati  $sp^3$  che rende l'anello a tre termini fortemente tensionato, e di conseguenza facilmente manipolabile.

I metodi comunemente utilizzati per la ciclopropanazione dei glicali sono:

- a. Reazione di Simmons-Smith
- b. Ciclopropanazione con dialogenocarbeni
- c. Ciclopropanazione mediante addizione di diazocomposti

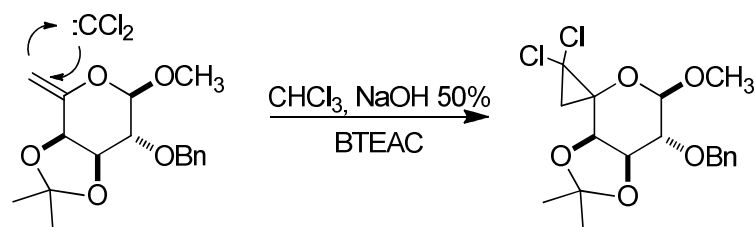
La reazione di Simmons-Smith<sup>4</sup> (Schema 1.1) rappresenta un'efficiente via per convertire gli alcheni in ciclopropani mediante l'impiego di diiodometano in presenza di una coppia zinco/rame; in questa reazione si verifica il trasferimento di un gruppo metilenico da un reagente organometallico al doppio legame<sup>5</sup> in maniera stereoselettiva, dovuta alla formazione di uno stato di transizione che prevede la coordinazione dell'ossigeno in posizione 3 del glicale con il complesso metilene-zinco-ioduro, e ciò dirige l'attacco del metilene su una sola faccia del doppio legame.



**Schema 1.1:** Reazione di Simmons-Smith

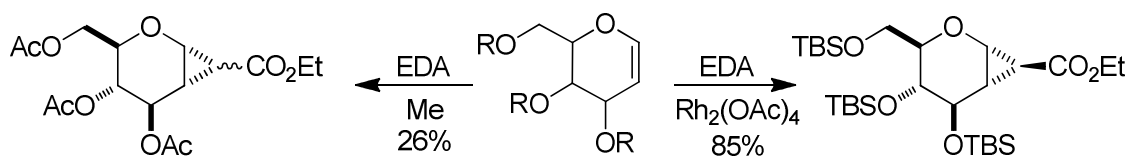
La ciclopropanazione mediante dialogenocarbeni consiste nell'addizione di un alogenocarbene ad un glicale.<sup>6</sup> Tale reazione è stata controllata da fattori sterici ed è tradizionalmente realizzata in cloroformio in presenza di una base forte e di un catalizzatore a trasferimento di fase, come il benzil trietilammoniocloruro. L'importanza

del catalizzatore risiede nella sua capacità di incrementare la superficie di esposizione tra la parte organica e quella acquosa in miscela, migliorando così la resa della reazione. Il ciclopropano risultante può essere isolato e successivamente ridotto con litio alluminio idruro per produrre il ciclopropano dealogenato (Schema 1.2).<sup>7</sup>



**Schema 1.2:** *Ciclopropanazione con alogenocarbeni*

La sintesi degli zuccheri ciclopropanati per reazione di glicali con diazo-composti è meno comune rispetto ai metodi descritti precedentemente, probabilmente a causa del rischio associato all'utilizzo di tali reattivi. La reazione avè stata con la decomposizione, metallo catalizzata, del diazo-composto in azoto e carbene, quest'ultimo si addiziona ad un alchene formando il ciclopropano. Nel primo esempio di diazociclopropanazione di uno zucchero è stata ottenuta una bassa resa per il composto ciclopropanato e non è stata riportata nessuna informazione sulla stereochimica.<sup>8</sup> In seguito la reazione è stata migliorata aumentando la diastereoselettività attraverso l'introduzione di gruppi protettori stericamente ingombranti, capaci di bloccare una faccia della molecola.<sup>9</sup> Inoltre è stata incrementata la resa attraverso l'utilizzo di acetato di Rodio come catalizzatore<sup>10</sup> (Schema 1.3).

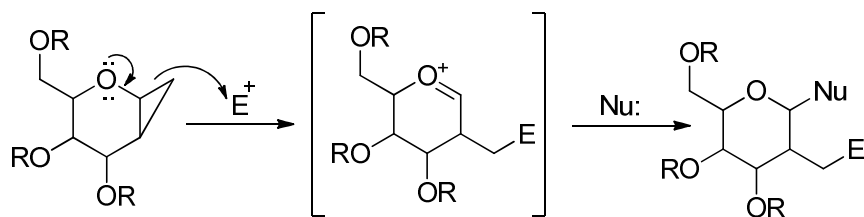


**Schema 1.3** *Ciclopropanazione mediante addizione di diazocomposti*

L'utilità dei derivati ciclopropanati risiede nel fatto che possono essere facilmente sottoposti a svariate reazioni di apertura dell'anello, e attraverso successive manipolazioni, possono essere introdotti diversi gruppi funzionali nelle molecole glicosidiche.

La sequenza di reazioni che si applicano alla maggior parte delle aperture dell'anello ciclopropanico sono riportate nello Schema 1.4, dal quale si può comprendere come la

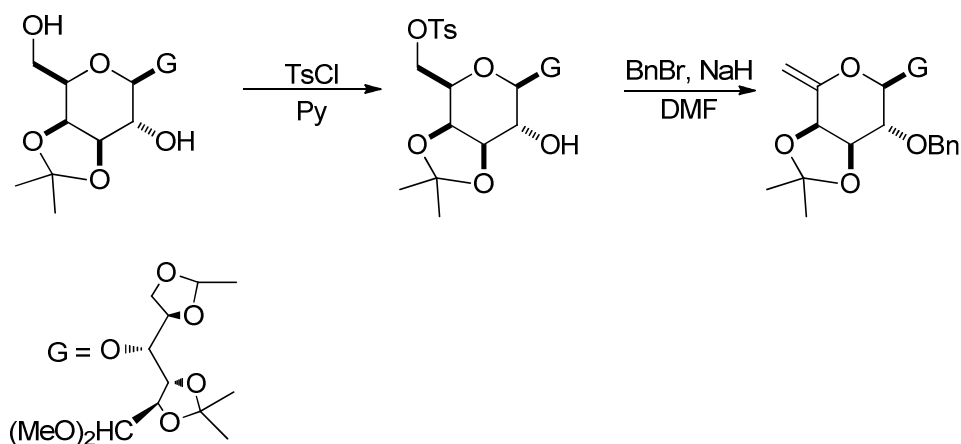
formazione dello ione ossonio intermedio guidi l'attacco nucleofilo che porta alla formazione degli zuccheri sostituiti.



**Schema 1.4**

Vista l'elevata possibilità di funzionalizzazione dei carboidrati insaturi, sono state sviluppate diverse strategie per la loro preparazione, seguite da innumerevoli applicazioni sintetiche. In letteratura sono presenti diversi lavori sui glicali<sup>11</sup> alcuni dei quali realizzati dal gruppo di ricerca presso cui ho svolto il mio lavoro di tesi, che in particolare ha sviluppato vie sintetiche per i 5-esoglicali ed i 4-endoglicali,<sup>12</sup> utilizzando come prodotto di partenza il lattosio.

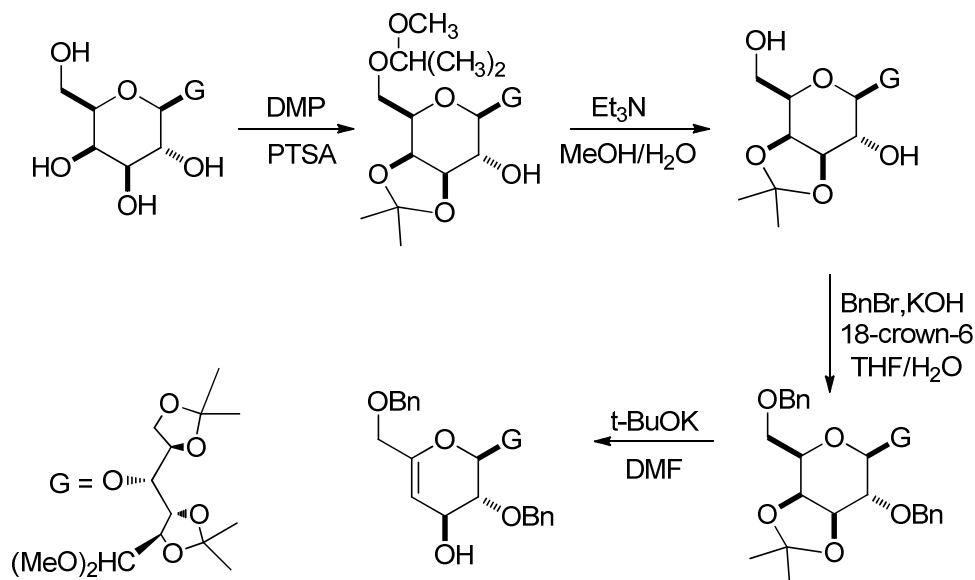
I 5-esenopiranosidi sono stati sintetizzati partendo dal 6'-*O*-tosil derivato del lattosio, precedentemente protetto attraverso una procedura "one-pot" di acetonzione-demetossiisopropilazione. Dopo trattamento con NaH in DMF, seguito dall'aggiunta di bromuro di benzile è stato ottenuto il 6'-desossi-5'-esenopiranoside (Schema 1.5).



**Schema 1.5**

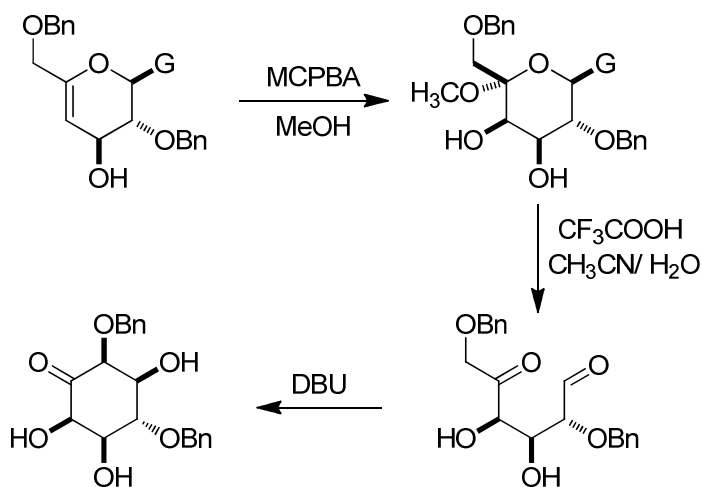
I 4-endoglicali sono stati ottenuti a partire dal lattosio totalmente protetto. È stata realizzata un'acetonzione con dimetossipropano e acido *p*-toluensolfonico, dalla quale è stato ottenuto il 2',6'-di-*O*-benzil-2,3:5,6:3',4'-tri-*O*-isopropiliden-lattosio dimetil acetale

che sottoposto a de-O-metossiisopropilazione con trietilammina in miscela di metanolo e acqua fornisce il substrato per la successiva benzilazione. Dopo trattamento con con *terz*-butossido di potassio in dimetilformammide anidra si ottenuto l'enoletere con una resa del 65% (Schema 1.6).



Schema 1.6

Interessanti risultano anche le applicazioni dei glicosidi insaturi. Un'esempio di applicazione dei 4-endoglicali è costituita dalla sintesi di inosoni,<sup>13</sup> precursori di ciclitoli, composti biologicamente attivi, in particolare sono inibitori delle glicosidasi, enzimi ubiquitari implicati nel metabolismo dei carboidrati nell'organismo (Schema 1.7).<sup>14</sup>

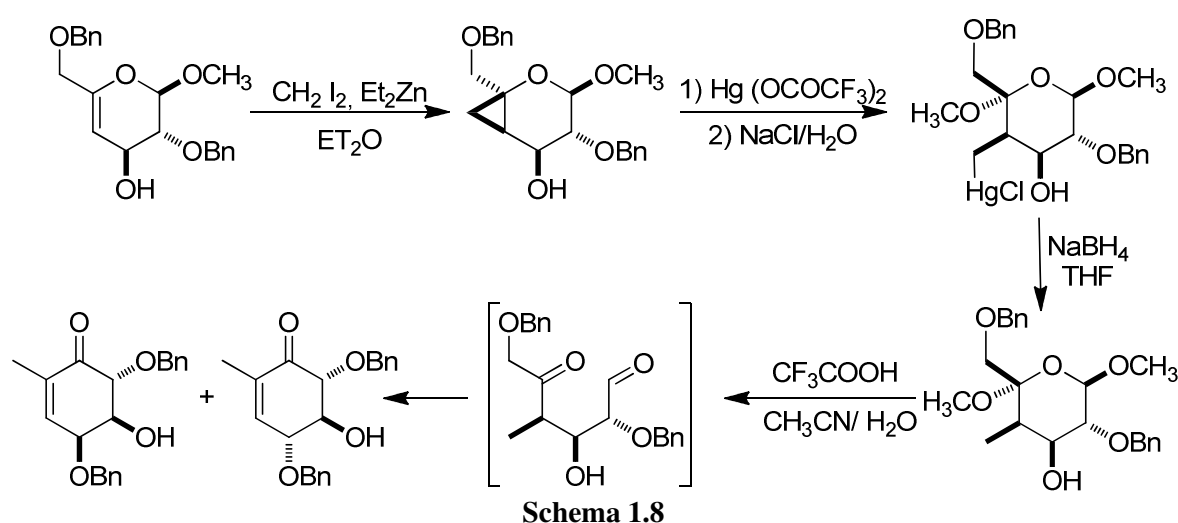


Schema 1.7



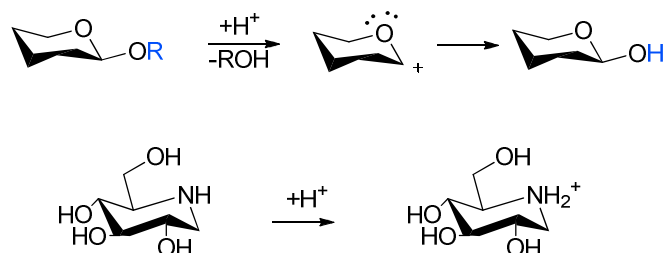
Il derivato insaturo del lattosio è stato sottoposto ad epossidazione/metanolisi<sup>15</sup> fornendo un bis-glicoside, che per trattamento con acido trifluoroacetico produce l'*L*-arabino-aldoesos-5-ulosio il quale per condensazione aldolica intramolecolare da origine all'inosone finale.

Un'ulteriore applicazione dei 4-endoglicali è rappresentata dalla sintesi delle gabosine, composti ad attività antitumorale (Schema 1.8). In questa via sintetica è stata utilizzata la ciclopropanazione di Simmons-Smith modificata da Furukawa<sup>16</sup> La variante apportata sulla tipica reazione di ciclopropanazione consiste nel sostituire la coppia metallica zinco/rame con dietilzinco.<sup>17</sup>



## 2.Scopo del lavoro

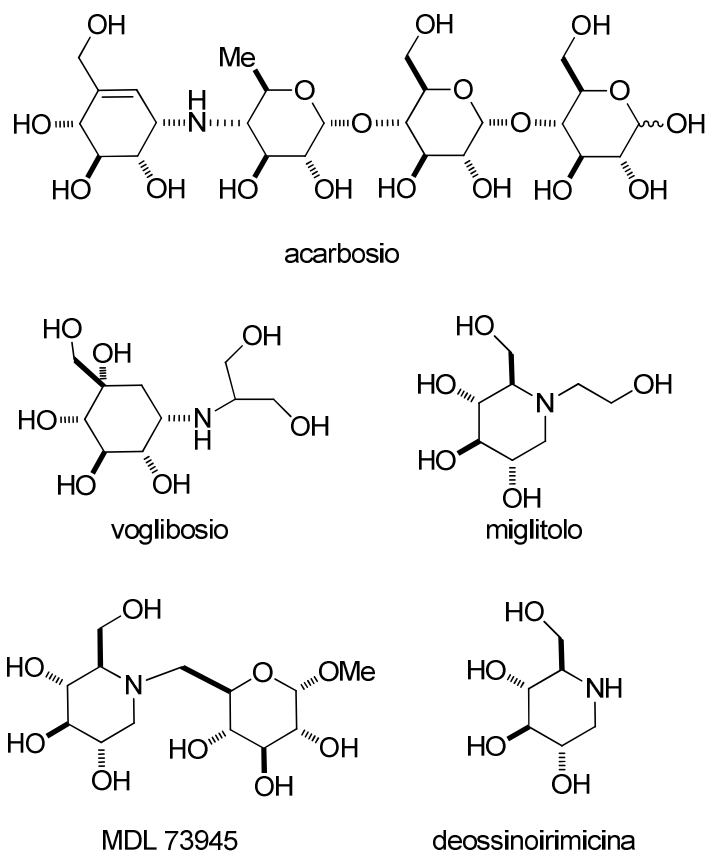
È stata realizzata la progettazione e la sintesi di derivati del lattosio con elevato potenziale biologico, gli aza-disaccaridi, che agiscono come inibitori delle  $\alpha$ -glicosidasi<sup>18</sup> per la loro capacità di mimare lo stato di transizione carico che si origina durante l'idrolisi enzimatica dei glicosidi (Figura 2.1).<sup>19</sup>



**Figura 2.1** Analogia fra lo ione ossicarbenio ed il catione degli azazuccheri

In particolare il loro bersaglio biologico risulta essere costituito dalle  $\alpha$ -glicosidasi situate sull'orletto a spazzola delle cellule dell'intestino tenue e deputate alla scissione dei carboidrati complessi in zuccheri semplici regolando la glicemia. Gli aza-disaccaridi possono essere quindi impiegati per il trattamento del diabete.

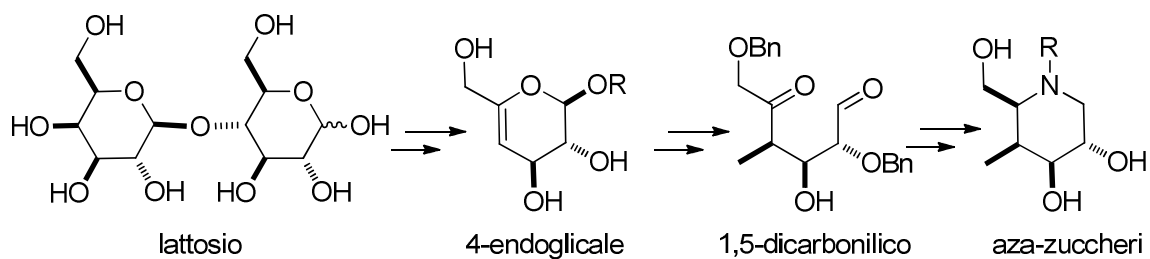
I composti che presentano proprietà anti-diabetiche attualmente sintetizzati<sup>20</sup> sono mostrati nella Figura 2.2.



**Figura 2.2**

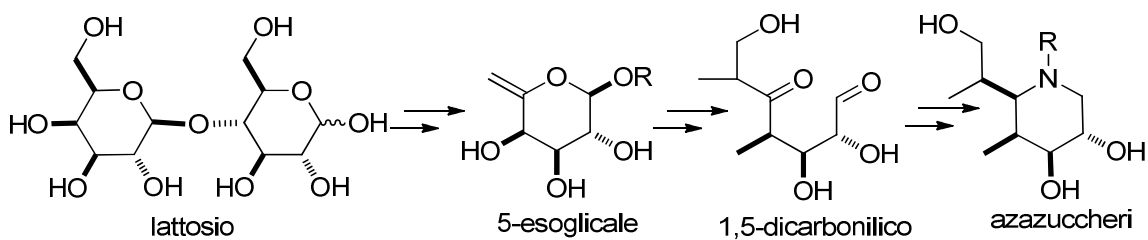
Prendendo come modello gli anti-diabetici già in uso, come alternativa alle strategie sintetiche riportate in letteratura,<sup>21</sup> nell'ambito di un programma di ricerca rivolto alla valorizzazione chimica del lattosio, è stato messo a punto uno schema di sintesi di nuovi analoghi azadisaccaridici<sup>22</sup> che utilizza come materiale di partenza derivati insaturi del lattosio.

Partendo da glicali, recanti un doppio legame in posizione 4 dell'unità galattopiranosidica del lattosio sono stati ottenuti aza-disaccaridi che hanno mostrato, in calcoli preliminari, una elevata capacità di binding con l' $\alpha$ -glicosidasi (Schema 2.1).



**Schema 2.1**

L'intermedio chiave della sintesi realizzata è il composto 1,5 dicarbonilico, e con lo scopo di sintetizzare nuovi aza-disaccaridi con diversa struttura chimica, è stata realizzata la sintesi di un nuovo eptos-5-ulosio, a partire dai 5-esoglicali, che potrà essere usato in sintesi future di aza-disaccaridi (Schema 2.2).

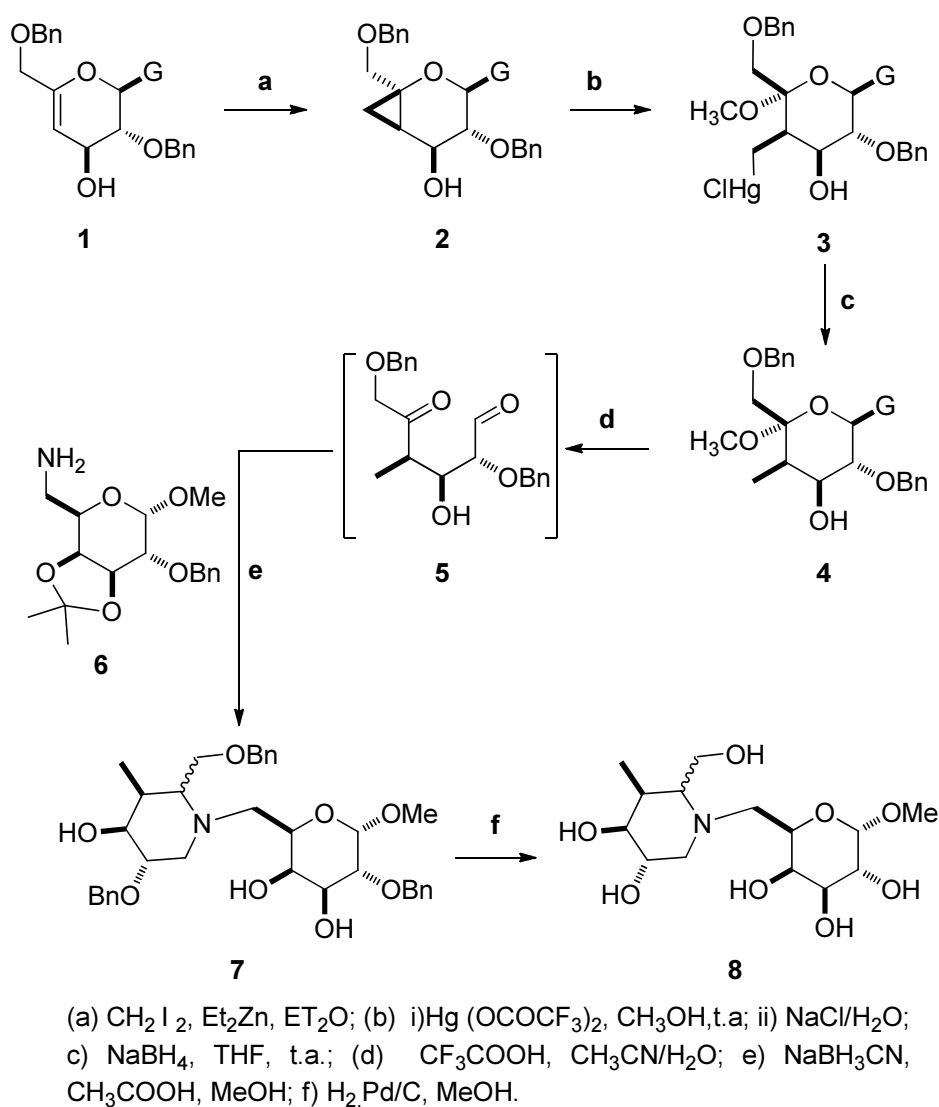


**Schema 2.2**

### 3. Risultati e Discussione

#### 3.1 Sintesi di azadisaccaridi da 4-endoglicali

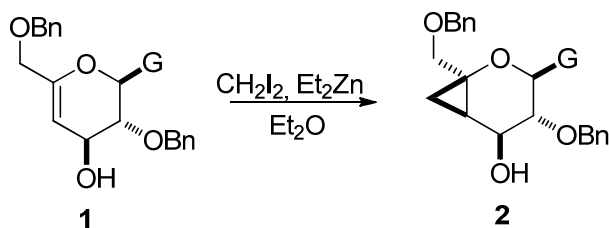
Il 4-endoglicale **1**, precursore della sintesi dell'aza-disaccaride **8**, è stato ottenuto dal lattosio, attraverso una strategia sintetica, precedentemente ottimizzata dal gruppo di ricerca presso cui ho svolto il mio lavoro sperimentale di tesi.<sup>23</sup>



**Schema 3.1**

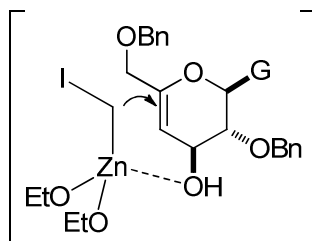
Grazie alla presenza del doppio legame all'interno dell'anello glicosidico è stato introdotto un anello ciclopropanico attraverso una reazione di Simmons-Smith modificata da Furukawa.<sup>24</sup> Successive reazioni di apertura del ciclopropano e idrolisi del bis-glicoside derivato si arriva all'intermedio chiave della sintesi, il dicarbonilico monosaccaridico, che per amminazione riduttiva con un 6-amminozucchero conduce al disaccaride desiderato **8**.

Il derivato 4'-eseno-piranosidico ciclopropanato **2**, è stato ottenuto come unico diastereoisomero, dalla reazione di ciclopropanazione utilizzando dietilzinco e diiodometano in etere anidro a 40°C in fiala chiusa (Schema 3.2).



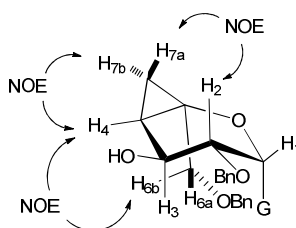
**Schema 3.2**

La stereochimica di questa reazione dipende dalla formazione di uno stato di transizione che prevede una coordinazione dell'ossigeno ossidrilico equatoriale in posizione 3 con il complesso metilene-zinco-ioduro che dirige l'attacco del metilene sulla faccia superiore del doppio legame contenente l'ossidrilico in posizione 3 (Figura 3.1).



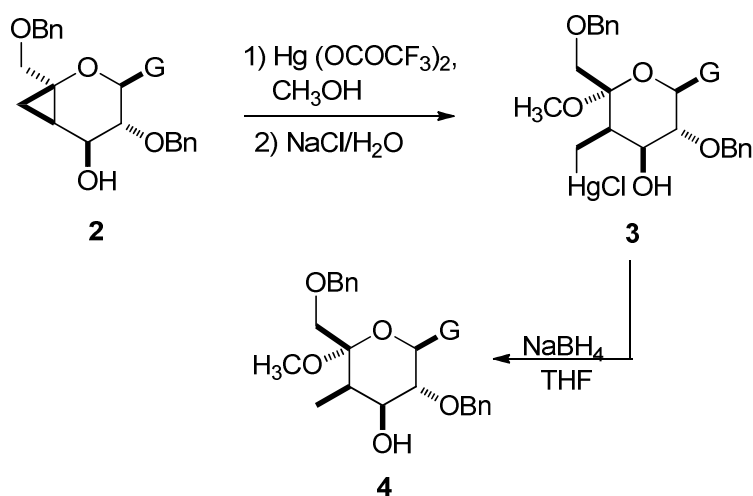
**Figura 3.1:** stato di transizione della reazione di ciclopropanazione

La configurazione relativa di **2** è stata assegnata sulla base dei valori delle costanti di accoppiamento tra i protoni H-3 e H-4 e dalla presenza di effetto NOE tra i protoni H-2, H-4, H-7a, e H-7b. Lo spettro <sup>1</sup>H-NMR presenta un elevato valore dell'accoppiamento tra i protoni H-3 e H-4 ( $J_{3,4}$  7,5 Hz) in accordo con una relazione di tipo *cis* tra questi due protoni. Inoltre di importante valore diagnostico sono gli incrementi NOE del 3.7% e del 3.9% che si manifestano tra H-7a ed H-2 e tra H-4, H-7b ed H-6b (Figura 3.2).



**Figura 3.2.:** effetti NOE tra i protoni del composto **2**

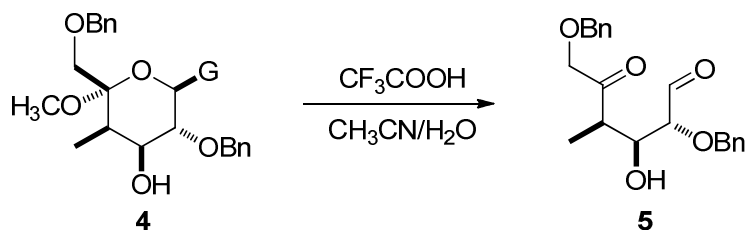
Il ciclopropanato **2**, altamente reattivo per la presenza dell'anello a tre termini fortemente tensionato, è stato sottoposto ad apertura elettrofila attraverso un processo di metossimercurazione con trifluoroacetato di mercurio (II) in metanolo anidro, seguito dall'aggiunta di cloruro di sodio, che provoca l'apertura dell'anello a tre termini e la formazione del derivato organomercurico **3** con alta resa, e alta regio- e stereoselettività. Il grezzo di reazione ottenuto, contenente **3**, è stato utilizzato tal quale per la demercuriazione con sodio boro idruro in tetraidrofurano, portando alla formazione del 4-metil-4-metossi-1,5-bisglicoside **4**, con buona resa (77%) (Schema 3.3).



**Schema 3.3**

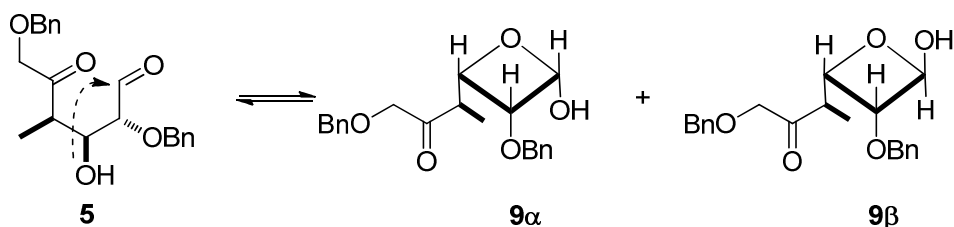
Lo spettro  $^1\text{H}$ -NMR di **4** mostra un doppietto centrato a 0.98 ppm per il gruppo metilico in posizione 4 che accoppia con il protone geminale H-4 ( $J_{\text{Me},4} = 7.0 \text{ Hz}$ ) ed un doppio doppietto a 2.44 ppm ( $J = 5.0 \text{ Hz}$ ) per il protone H-4 che mostra un accoppiamento di tipo *cis* assiale/equatoriale ( $J_{3,4} = 5.0 \text{ Hz}$ ) con il protone in posizione 3, mentre i protoni in posizione 1, 2 e 3 presentano accoppiamenti simili a quelli dei precursori di reazione **1** e **2**, dal momento che non costituiscono il centro reattivo della molecola. Esperimenti NOE hanno permesso di confermare la stereochimica di **4**, già assegnata sulla base dei valori delle costanti di accoppiamento. L'irraggiamento del protone H-2 (3.21 ppm) determina un innalzamento (5%) del segnale relativo al gruppo  $\text{CH}_3$  in posizione 4 e dei protoni in posizione 6 (5%), così come irradiando il protone H-3 (4.32 ppm) si ha un effetto NOE positivo con il protone H-4 (2%) e con il gruppo  $\text{OCH}_3$  (3%), confermando quindi la disposizione *cis* assiale/equatoriale tra H-3 e H-4 e  $\text{OCH}_3$ .

Il bis-glicoside **4**, per trattamento con acido trifluoroacetico in miscela di acetonitrile e acqua, che causa la rottura del legame glicosidico con liberazione di glucosio, conduce all'intermedio 4-deossi-4-metil-L-arabino-esos-5-ulosio **5** (Schema 3.4).



Schema 3.4

Dai dati spettrali  $^1\text{H}$  NMR condotti anche in una soluzione di  $\text{CD}_3\text{CN}/\text{D}_2\text{O}$ , il dicarbonilico **5** risulta esistere sotto forma di una complessa miscela che coinvolge diversi equilibri tautomerici (Schema 3.5) che derivano dalle diverse possibilità di chiusura dell'anello, con l'emicetalizzazione su entrambi i carbonili delle funzioni aldeidica e chetonica, rispettivamente.

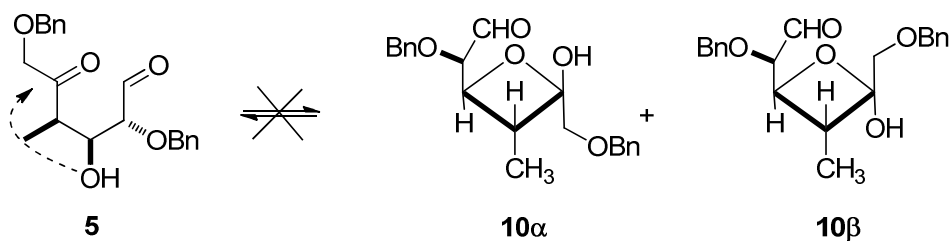


Schema 3.5

Tra questi è stato possibile individuare due forme i cui segnali nello spettro  $^1\text{H}$ NMR sono abbastanza evidenti ed alle quali sono state assegnate le strutture anomeriche ossetaniche  $\alpha$  e  $\beta$  che si formano per attacco del gruppo ossidrilico in posizione C-3 al gruppo aldeidico nel rapporto 1:1.06, come da calcolo dell'integrazione dei segnali dei protoni anomeriche delle strutture riportate nello Schema 3.6. I protoni anomeriche di queste strutture ossetaniche risuonano a 5.34 ( $J = 5.0$  Hz,) e 5.44 5.44 ( $J = 1.0$  Hz) ppm rispettivamente della forma  $\alpha$  e  $\beta$  spostamenti analoghi si possono osservare sia per gli altri protoni dell'anello ossetanico (H-2 $\alpha$  3.38 e H-2 $\beta$  3.28, H-3 $\alpha$  3.78 e H-3 $\beta$  4.11) che per i due gruppi metilici (0.87, 0.84 ppm).

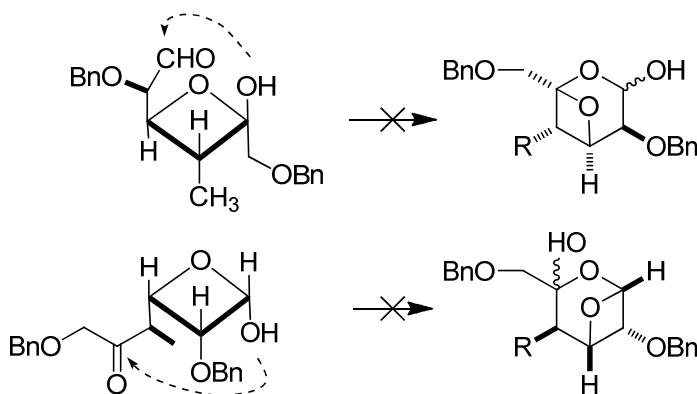
Anche gli spettri  $^{13}\text{C}$  NMR mostrano chiaramente lo stesso sdoppiamento dei segnali delle due forme anomeriche; così, per esempio, i due carboni anomeriche risuonano a 94.2 e 91.1 ppm.

Non esistono evidenze negli spettri  $^1\text{H}$  NMR della presenza di forme aperte, di cicli derivati dall'attacco dell'OH in C-3 sul carbonile chetonico (Schema 3.6).



Schema 3.6

Inoltre non sono presenti strutture bicicliche, che potrebbero derivare dalla formazione di un secondo anello emiacetalico tra il gruppo ossidrilico e il gruppo carbonilico rimasto libero dopo la ciclizzazione iniziale (Schema 3.7).



Schema 3.7

Con l'intento di ottenere ulteriori informazioni sugli equilibri tautomerici osservati, è stato condotto uno studio computazionale. I risultati ottenuti sono pienamente d'accordo con i dati sperimentali, che ha sottolineato i valori più bassi di  $\Delta H$  per le forme **9- $\alpha$** , **9- $\beta$** .

È stato realizzato, presso l'Università di Catania, un calcolo preliminare (Monte Carlo simulated annealing),<sup>25</sup> per studiare le geometrie dei composti **9- $\alpha$**  e **9- $\beta$**  in base alla distribuzione Boltzmann, ed al fine di determinare l'effetto del solvente, è stato condotto un calcolo di solvatazione (Modello SM 5.4/A)<sup>26</sup> I risultati degli studi effettuati sono riportati nella Tabella 3.1

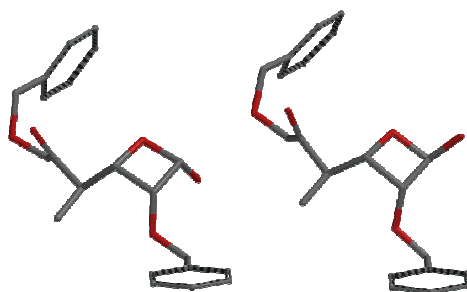


**Tabella 3.1**

	$\Delta H_f$ (kcal/mol)	Distribuzione di Boltzmann (%)	$\Delta H_{aq.}$ (kcal/mol)	Distribuzione di Boltzmann (%)	Distribuzione sperimentale (%)
<b>10-<math>\alpha</math></b>	-139.97	0.00	-147.29	0.00	0.00
<b>10-<math>\beta</math></b>	-140.22	0.00	-147.30	0.00	0.00
<b>9-<math>\alpha</math></b>	-145.97	54.60	-154.87	21.56	49.02
<b>9-<math>\beta</math></b>	-145.86	45.40	-155.64	78.44	49.98

*Entalpie di formazione e distribuzione percentuale al livello di calcolo AM1 , per i composti **10- $\alpha$** , **10- $\beta$** , **9- $\alpha$** , **9- $\beta$***

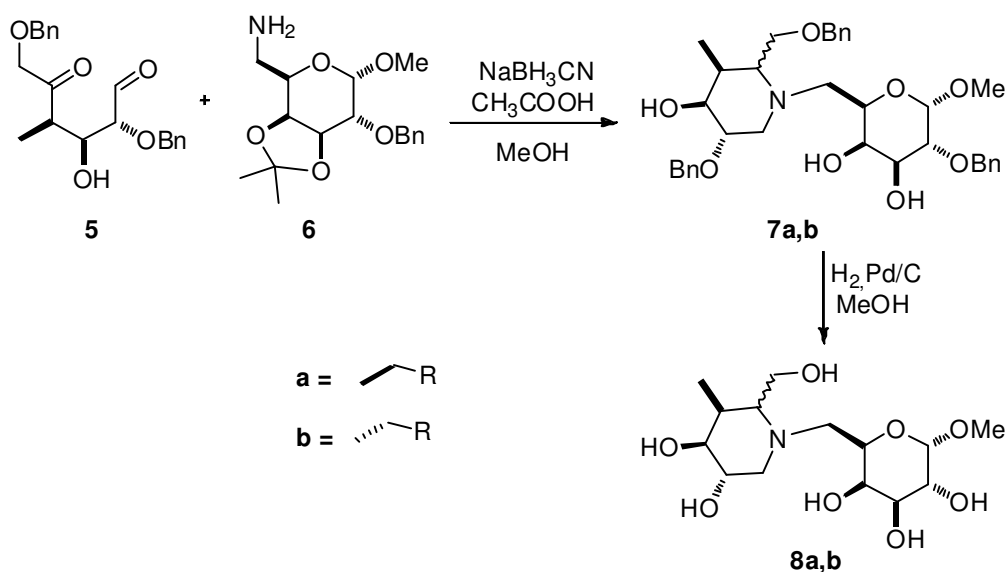
Dall'analisi della tabella 3.1, è evidente che, la chiusura dell'anello preferita è quello che si attua tra il gruppo ossidrilico 3 e il gruppo aldeidico per dare una miscela degli anomeri **9- $\alpha$** , **9- $\beta$** . Mentre in fase gassosa, gli  $\alpha$ -anomeri sono favoriti sui  $\beta$  anomeri, in soluzione acquosa questa tendenza è invertita; pertanto, è evidente che l'equilibrio  $\alpha/\beta$  è in gran parte influenzato dal solvente andando da  $\alpha$  a  $\beta$  con l'aumento di polarità. Ciò spiega i risultati sperimentali che sono stati ottenuti dagli spettri  $^1\text{H}$  NMR registrati in acetonitrile. I due più stabili conformeri **9- $\alpha$** , **9- $\beta$**  sono mostrati nella Figura 3.3



**Figura 3.3:** Anomeri **9- $\alpha$** , **9- $\beta$** ; tutti gli atomi di idrogeno sono state omissi per chiarezza.

La sintesi dell'aza-disaccaride **8** è stata realizzata attraverso una reazione di aminazione riduttiva. Il primo passaggio prevede il trattamento del composto 1,5-dicarbonilico **5**, con  $\text{NaBH}_3\text{CN}$  e metil-6-ammino-6-deossi-3,4-*O*-isopropiliden- $\alpha$ -D-galattopiranoside **6**, ottenuto attraverso una semplice sintesi descritta in letteratura.<sup>27</sup> La reazione è stata condotta a  $-78^\circ\text{C}$  per due ore e successivamente lasciata a temperatura ambiente per 48 ore, sotto agitazione magnetica. Il crudo di reazione è costituito dalla miscela dei due prodotti di aminazione riduttiva, **7a** e **7b** (D e L), in rapporto 86:14. La conversione dei

disaccaridi **7a** e **7b** negli *N*-glicosidi deprotetti **8a** e **8b** finali è stata eseguita attraverso una idrogenazione catalitica con Pd/C in metanolo, con una resa dell'85% (Schema 3.8).



Schema 3.8

Dopo una prima purificazione per cromatografia flash, i due epimeri al C-5 sono stati separati attraverso HPLC e caratterizzati mediante esperimenti NMR (Figura 3.4). L' $^1\text{H}$  NMR del composto più abbondante **8a** mostra i segnali diagnostici dell'anello dell'azazucchero: per i protoni H-1' assiale ed equatoriale, a 3.21 ppm e a 2.20 ppm, rispettivamente ed a 2.70 ppm per H-5'. La stereochimica del nuovo centro chirale formato al C-5' è stata stabilita sulla base di dati NMR. In particolare, una piccola  $J_{4',5'}$  (4,2 Hz) indica una relazione *cis* assiale/equatoriale tra l'H-4' (tq, 2.28 ppm) e l'H-5' (m, 2.70 ppm). Questa disposizione è stata confermata da esperimenti NOE monodimensionali, che mostrano un effetto NOE per H-2' e i due protoni H-6' quando è stata irradiato il gruppo  $\text{CH}_3$  (0.9 e 1.2% rispettivamente).

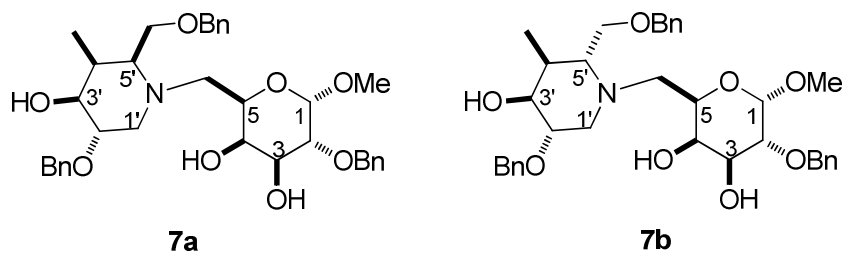
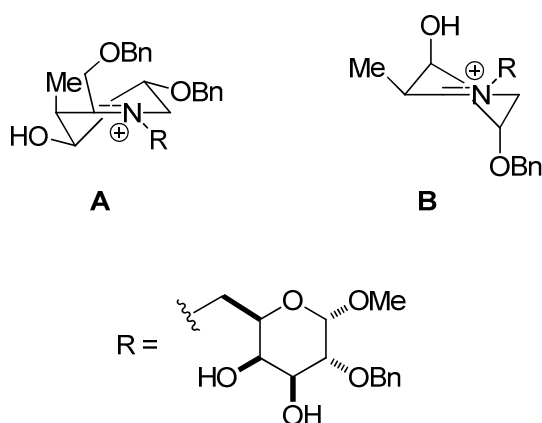


Figura 3.4

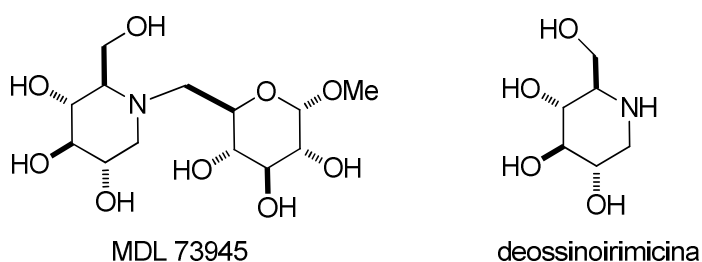
La diastereoselettività delle riduzioni amminative dipende generalmente dall'effetto del gruppo OH adiacente al legame C=N.<sup>28</sup> Nel caso della reazione tra **5** e **6**, la diastereoselettività osservata, che porta al rapporto D/L 86:14 è stata razionalizzata considerando l'effetto dell'OH in C-3 nella direzione dell'attacco dell'idruro, come osservato in alcol ciclici omoallilici.<sup>29</sup> La reazione di amminazione riduttiva eseguita con NaBH<sub>3</sub>CN sugli intermedi ioni imminio A e B è diretta dal gruppo ossidrilico in C-3, che favorisce l'attacco dell'idruro sul più stabile conformero A, che mostra un gruppo pseudo assiale, e dal quale deriva l'azazucchero maggioritario **7a** (Figura 3.5).



**Figura 3.5**

Per la progettazione e la sintesi degli aza-disaccaridi, sono stati effettuati degli studi di “molecular docking” utilizzando la subunità catalitica dell' $\alpha$ -glicosidasi o NtMGAM (maltasi-glucoamilasi umana).

Come composto di riferimento è stato preso l'MDL 73495,<sup>30</sup> noto inibitore delle  $\alpha$ -glicosidasi intestinali (GI), che costituisce l'unico esempio tra gli inibitori sintetizzati fino ad ora, che presenta l'azoto amminico legato al C-6 di un 6-deossiglicoside (Figura 3.6).

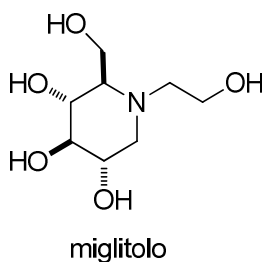


**Figura 3.6**

L'unica sintesi riportata di questa molecola coinvolge una condensazione tra un derivato della deossinoirimicina ed un glicoside triflato o alogenato.<sup>31</sup>

Dopo l'analisi delle varie strategie sintetiche utilizzate per ottenere la deossinoirimicina, la doppia ammirazione riduttiva di un aldoses-5-ulosio, ha rappresentato una valida alternativa per la sintesi dei composti di partenza.<sup>32</sup>

Il disegno razionale degli aza-disaccaridi è iniziato dall'esame della struttura cristallina recentemente riportata da Pinto e Rose<sup>33</sup>, di un GI con struttura semplificata rispetto al MDL 73495, costituito dal miglitolo nel sito catalitico di NtMGAM (Figura 3.7).

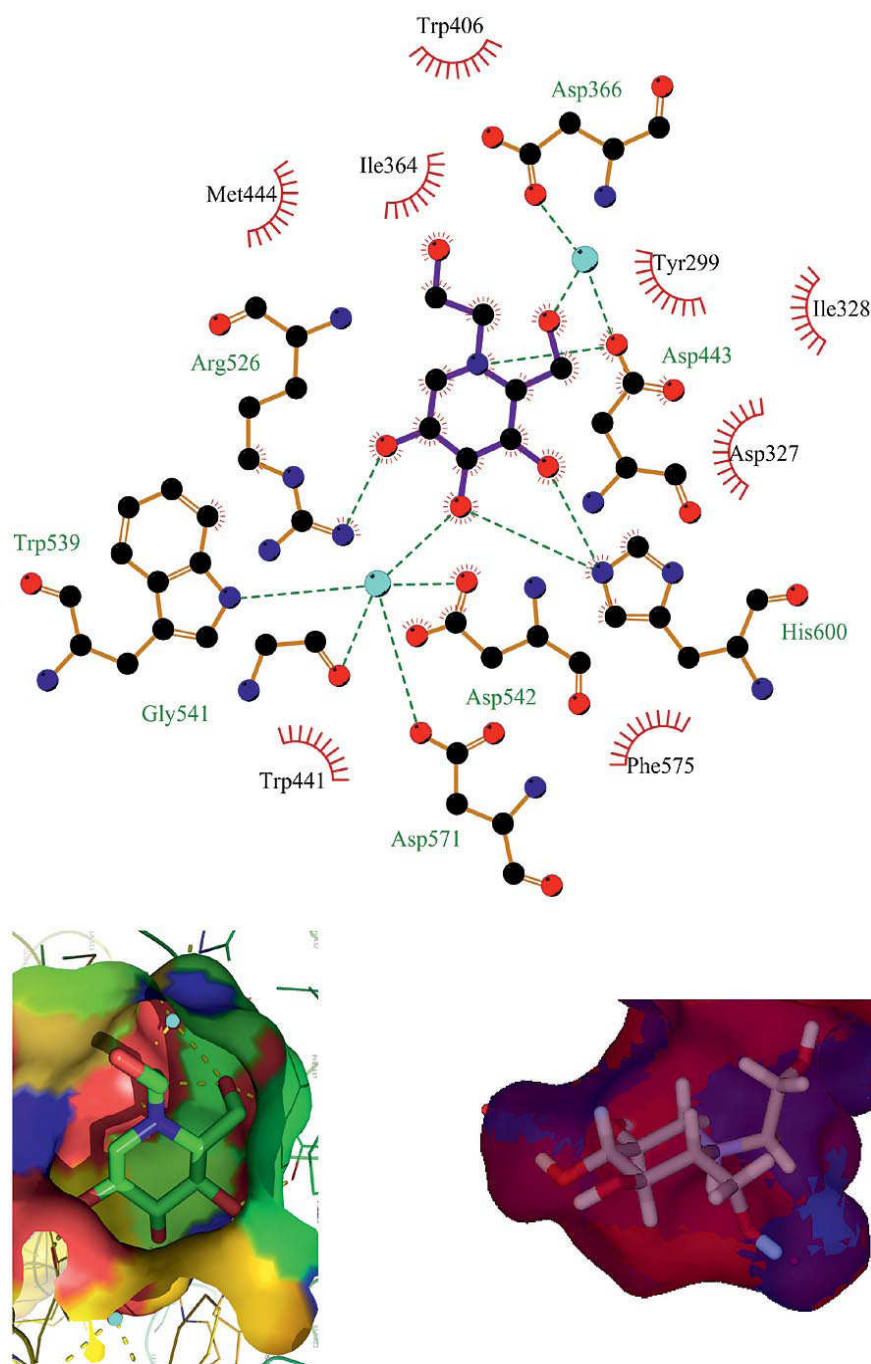


**Figura 3.7**

Come mostrato nella Figura 3.8 due molecole di acqua formano legami ad idrogeno con i residui D366, D443, D571 e W539, presenti nel sito catalitico, in accordo con la nomenclatura di Davies e coll.<sup>34</sup>

Il miglitolo, oltre ad instaurare legami ad idrogeno con questi residui, attraverso il 6-OH interagisce con una porzione carica negativamente della tasca, togliendo spazio che potrebbe essere riempito con una opportuna sostituzione dell'inibitore. Inoltre, una porzione a carattere idrofobico del sito attivo localizzata al di sotto dell'H-4 del miglitolo, è priva di interazioni.

Queste osservazioni suggeriscono che potrebbe essere migliorato il legame con il substrato per inserzione di una carica positiva in posizione C-6 e un gruppo lipofilo in C-4 del miglitolo.

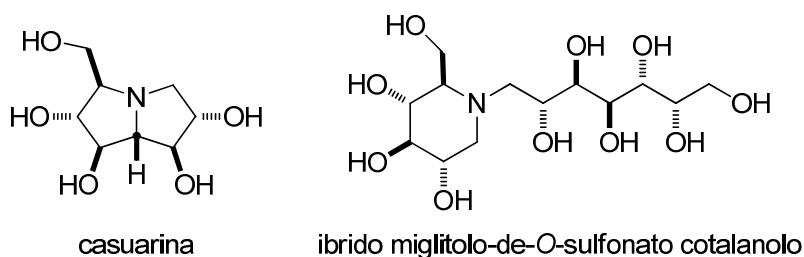


**Figura 3.8:** Struttura a raggiX del miglitolo complessato con NiMGA. Nella parte superiore una vista schematica 2D delle interazioni idrofobiche e legami ad idrogeno. Nella parte inferiore: vista 3D della superficie della tasca catalitica, come superficie elettrostatica (sinistra) e superficie idrofobica (destra). Le molecole di acqua sono riportate in azzurro. Il disegno 2D è stato preparato con LigPlot+<sup>35</sup>.

Queste osservazioni suggeriscono che potrebbe essere migliorato il legame con il substrato per inserzione di una carica positiva in posizione C-6 e di un gruppo lipofilo in C-4 del miglitolo.

Per valutare l'importanza delle due molecole di acqua è stato effettuato uno studio di docking rimuovendo le stesse, ed il risultato ha mostrato un loro importanza marginale ( $\Delta G_{\text{Bind}} = 0.15 \text{ kcal mol}^{-1}$ ).

Per validare il modello sono stati analizzati miglitolo, casuarina ed un ibrido miglitolo-de-*O*-sulfonato cotalanolo per confrontare i loro valori di costante di inibizione enzimatica ( $K_i$ ) sperimentali e calcolati (Figura 3.9).



**Figura 3.9**

Tutti i modelli sono protonati all'atomo di azoto dell'aza-zucchero con il protone in posizione assiale. La protonazione in posizione equatoriale conduce ad un conformero meno stabile, con una diminuzione dei valori di  $K_i$ .

I risultati, mostrati nella Tabella 3.2,<sup>36</sup> mostrano che il modello è valido nel riprodurre i valori sperimentali di  $K_i$  con un elevato grado di precisione. L' inversione nella potenza della casuarina<sup>37</sup> rispetto al miglitolo,<sup>38</sup> è facilmente giustificato dalla elevata flessibilità della tasca enzimatica.

**Tabella 3.2:** Costanti di inibizione calcolate e sperimentali per il miglitolo e analoghi su NtMGAM.

Ligando	$\Delta G_{\text{Bind}}$ calc. [0.15 kcal mol <sup>-1</sup> ]	$K_i$ calc [μM]	$K_i$ sper. [μM]
Miglitolo	-8.30	0.819	1.000
Casuarina	-8.24	0.904	0.450
Ibrido miglitolo-de- <i>O</i> -sulfonato cotalanolo	-7.72	2.210	1.400

Una volta conosciute le interazioni del sito attivo della NtMGAM, con lo scopo di utilizzare derivati del lattosio come materiali di partenza, sono stati effettuati gli studi di molecular docking con l'introduzione di modificazioni su MDL 73945, sulla base dei risultati ottenuti con i calcoli sul miglitolo.

È stata realizzata l'inserzione di un gruppo idrofobico in posizione assiale del C-4' per sfruttare la tasca idrofobica riscontrata nel sito dell'enzima, e la sostituzione dell'OH in C-6 con un gruppo amminico che può essere protonato,<sup>39</sup> per sfruttare l'interazione con la parte della tasca carica negativamente e con l'inversione della configurazione sul C-4 dell'unità glicosidica, è stata ottenuta la 6-deossi-6-ammino-**8a** usata come composto di riferimento  $\alpha$ -GI con un valore di  $K_i$  pari a 686  $\mu$ M.

In seguito sono state considerate ulteriori modifiche che hanno condotto ai derivati mostrati in Figura 3.10, per i quali sono state calcolate le energie di binding, riportate nella Tabella 3.3.

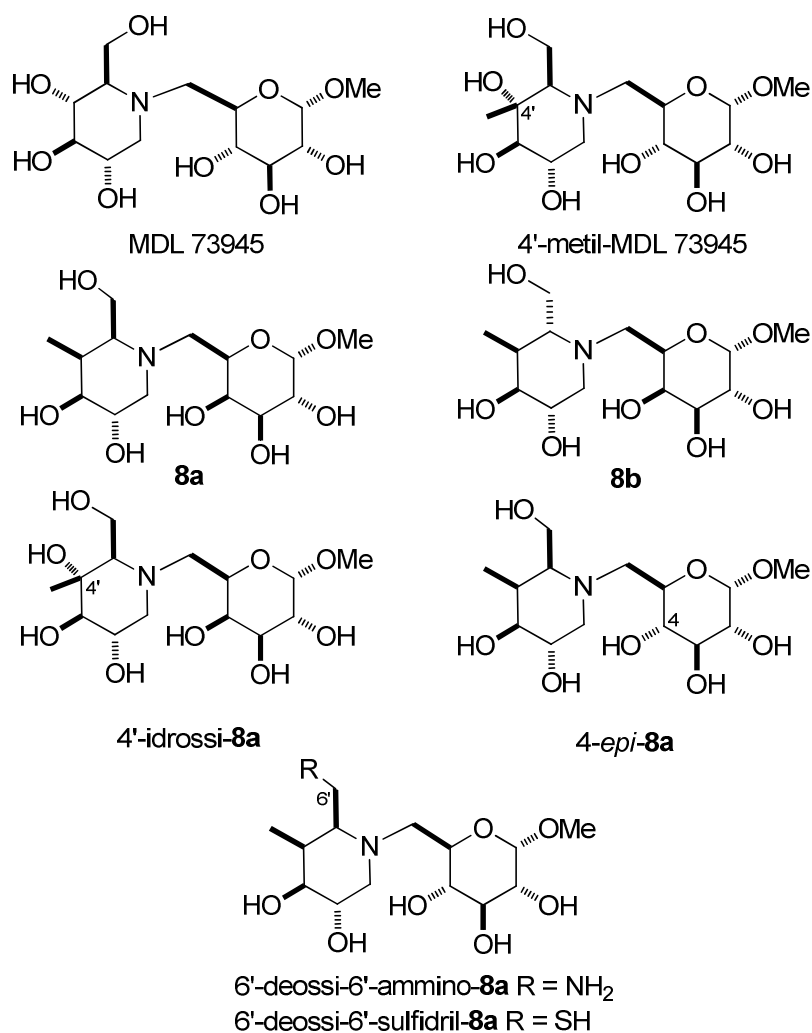


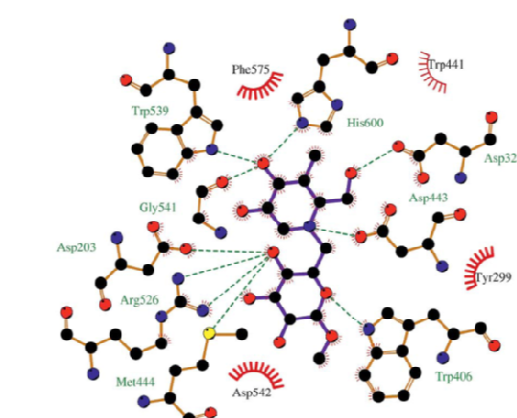
Figura 3.10

**Tabella 3.3.** Energie di binding e costanti di inibizione calcolate per i derivati in figura 3.8 per il sito catalitico di NtMGAM.(a) L'azoto protonato è in posizione equatoriale.

Ligando	$\Delta G_{\text{Bind}}$ calc. [0.15 kcal mol <sup>-1</sup> ]	K <sub>i</sub> calc [nM]
MDL 73945	-8.92	289
4'-metil-MDL 73945	-9.37	136
<b>8a</b>	-9.81	64
<b>8b</b>	-8.51	582
<b>8a</b> -(H <sub>eq</sub> ) <sup>(a)</sup>	-7.23	5020
<b>8b</b> -(H <sub>eq</sub> ) <sup>(a)</sup>	-8.20	976
4'-idrossi- <b>8a</b>	-9.63	87
4-epi- <b>8a</b>	-9.54	101
6'-deossi-6'-sulfidril- <b>8a</b>	-10.41	23
6'-deossi-6'-ammino- <b>8a</b>	-12.51	0.680

La 6'-deossi-6'-ammino-**8a** presenta la migliore attività. Come si evince dai risultati, la protonazione in posizione equatoriale per **8a** e per l'epimero in C-5' **8b**, diminuisce la potenza soprattutto per **8a**. Per quanto riguarda le conseguenze indotte dai diversi sostituenti, l'introduzione di un gruppo metilico in C-4' raddoppia l'attività, mentre la semplice rimozione del 4'-OH ne produce solo un lieve aumento, ciò suggerisce l'importanza che possiedono le interazioni idrofobiche. Al contrario, l'importanza dei legami ad idrogeno è marginale, come dimostrato dalla mancata influenza sull'attività, dei due nuovi legami ad idrogeno che si vengono ad instaurare quando si effettua l'epimerizzazione in posizione di 4.

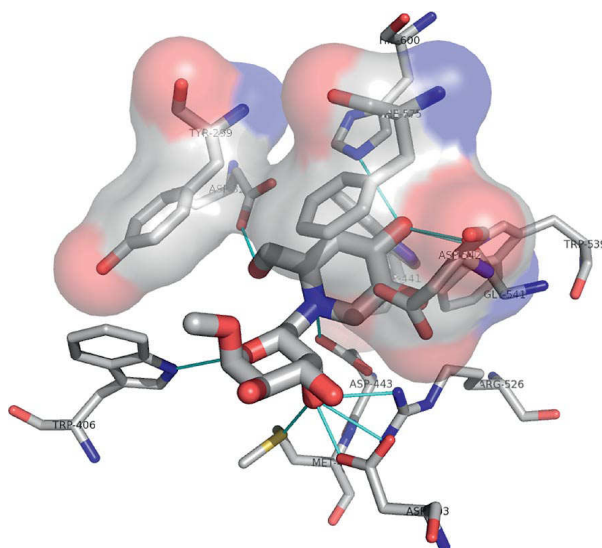
Tutte le interazioni idrofobiche e i legami ad idrogeno per **8a** sono rappresentati nella Figura 3.11.



**Figura 3.11:** vista 2D delle interazioni idrofobiche e legami ad H di di **8a** con NtMGAM.



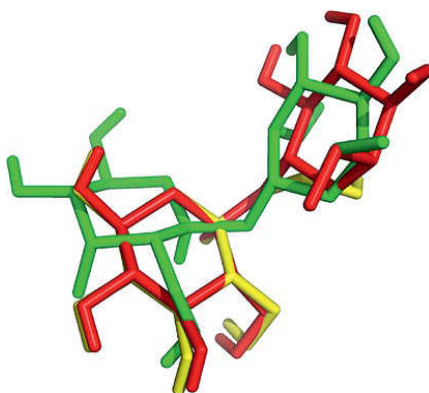
Nella Figura 3.12 è inoltre mostrato un più realistico modello 3D per **8a**.



**Figura 3.12:** *Molecular docking di **8a** nel sito catalitico di NtMGAM. Per semplicità, solo i residui amminoacidici effettivamente coinvolti nei legami sono mostrati. Le linee azzurre rappresentano i legami ad idrogeno tra ligando e recettore.*

Dalle due figure sopra mostrate, emerge una nuova interazione idrofobica tra il gruppo metilico presente in **8a** e Trp441. In ogni caso sono evidenti 10 legami ad idrogeno : 4 di essi con Asp203, Arg256 and Met444, dovuti alla posizione assiale del 4-OH, sono ridotti a due quando il gruppo ossidrilico si trova in posizione equatoriale.

Infine, nella Figura 3.13 si riporta la sovrapposizione del miglitolo con MDL 73945 e **8a** per una migliore comparazione tra le conformazioni e le posizioni adottate durante il legame con l'enzima.

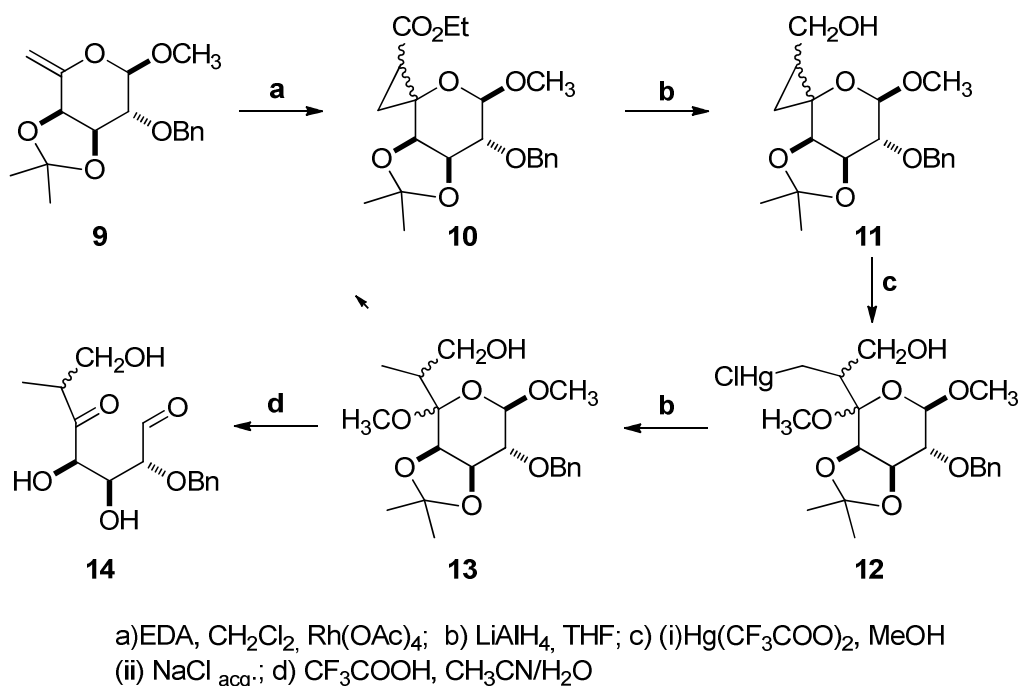


**Figura 3.13:** *sovrapposizione del miglitolo (giallo), MDL 73945 (rosso) e **8a** (verde).*

Il miglitolo e MDL 73945 sono perfettamente sovrapposti, mentre l'**8a** si trova in una posizione diversa poiché l'introduzione del gruppo metilico in posizione assiale sul C-4', provoca una variazione della struttura totale, che, altresì, conduce ad un avvicinamento dell'azoto protonato verso il residuo Asp443 del sito catalitico, con il quale forma un legame ad idrogeno essenziale per l'attività inibitoria.<sup>40</sup>

### 3.2 Sintesi di composti 1,5-dicarbonilici da 5-esoglicali

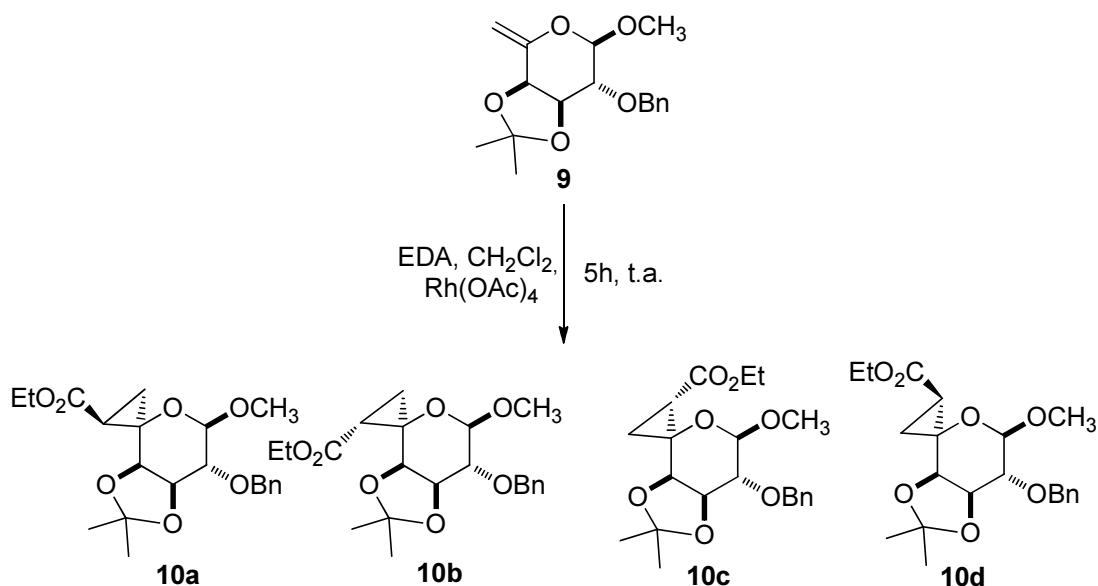
La sintesi degli eptos-5-ulosi, utili per una futura sintesi di aza-disaccaridi, è stata realizzata utilizzando come prodotto di partenza il 6'-desossi-5'-esenopiranoside, facilmente ottenutibile dal metil- $\beta$ -D-galattopiranoside commerciale, seguendo un approccio sintetico elaborato dal gruppo di ricerca presso cui ho svolto il lavoro di tesi. Il 5-esenopiranoside **9**, sottoposto ad una reazione di ciclopropanazione con addizione di diazo-composti, ha prodotto **10** che dopo apertura elettrofila, attraverso un processo di metossimercuriazione/demercuriazione, conduce al 4-desossi-4-C-metil-1,5-bis glicoside **13**, il quale è stata idrolizzato nel corrispondente derivato 1,5-dicarbonilico **14** (Schema 3.9).



Schema 3.9

La reazione di ciclopropanazione dell'esoglicale chetopiranosidico **9** è stata condotta utilizzando etildiazoacetato in diclorometano anidro, in presenza di un largo eccesso di acetato di rodio, che ha condotto ad una miscela di stereoisomeri. In particolare è stata

ottenuta una miscela dei quattro spirociclopropancarbossilati **10a-d**, nel rapporto di 1.2:0.8:2.0:1.8 con una resa del 98% (Schema 3.10).



**Schema 3.10**

Dalla purificazione per flash cromatografia (Cy/AcOEt 15%) della miscela di reazione, è stato separato solamente lo stereoisomero **10d**, mentre i restanti stereoisomeri sono stati ottenuti come composti puri solamente dopo separazione per HPLC, nella sequenza **10c** (37%), **10a** (12%) e **10b** (14%). La formazione degli anelli spirociclopropanici è stata evidenziata da spettri NMR mono e bi-dimensionali. Nella Tabella 3.4 vengono riportati i valori di  $\delta$  e gli accoppiamenti, facilmente attribuibili ai protoni direttamente legati agli atomi di carbonio dei due anelli, mentre i dati degli esperimenti NOE, riportati in Tabella 3.5, sono stati utilizzati per assegnare la stereochimica.

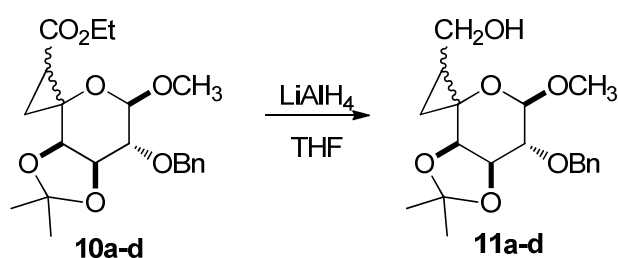
**Tabella 3.4.** Chemical shifts (ppm) e costanti di accoppiamento (Hz) degli spettri  $^1\text{H}$  NMR degli addotti spirociclopropancarbossilici **10a-d** ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz)

	<b>H-6a</b>	<b>H-6b</b>	<b>H-7</b>	$J_{\text{cis}}$	$J_{\text{trans}}$	$J_{\text{gem}}$
<b>10a</b>	1.08	1.66	2.21	7.0	9.0	6.0
<b>10b</b>	1.66	1.66	1.88	8.0	9.0	6.5
<b>10c</b>	1.39	1.89	1.84	6.5	8.5	6.0
<b>10d</b>	1.67	1.67	1.88	8.0	9.2	6.5

**Tabella 3.5.** Effetti NOE osservati per l'irradiazione dei protoni H-4, H-6a, H-6b, e/o H-7 degli spirociclopropancarbossilati **10a-d**.

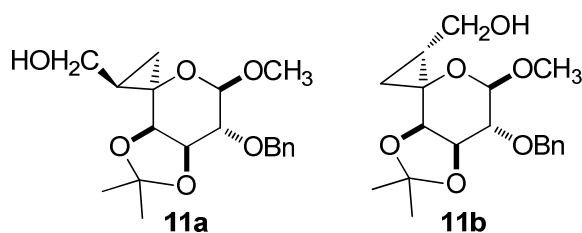
	H irradiati	NOE (%)
<b>10a</b>	H-6b (1.66)	H-1 (4.5)
	H-6a (1.08)	H-4 (4.9), H-7 (3.1)
<b>10b</b>	H-6b (1.66)	H-4 (2.8)
	H-7 (1.88)	OCH <sub>3</sub> (4.6)
<b>10c</b>	H-6a (1.39)	H-6b (27.1), H-7 (4.1)
	H-4 (3.84)	H-7 (6.7), H-6a (2.6)
<b>10d</b>	H-6a,b (1.67)	H-7 (1.9), H-4 (3.5)
	H-7 (1.88)	H-1 (5.2)

La miscela degli spiroaddotti **10a-d** è stata sottoposta a riduzione del gruppo estereo a gruppo alcolico con LiAlH<sub>4</sub> in THF anidro, per eliminare il gruppo carbossilico che avrebbe potuto interferire con il sale di mercurio durante l'apertura elettrofila dell'anello ciclopropanico (Schema 3.11).



**Schema 3.11**

La cromatografia su colonna del grezzo di riduzione ha fornito una miscela contenente i quattro diastereoisomeri **11a-d** (1.3:1:1.2:1). Successivamente, la miscela è stata sottoposta a purificazione mediante HPLC, che ha permesso di isolare solamente i composti **11a** e **11b** (Figura 3.12).



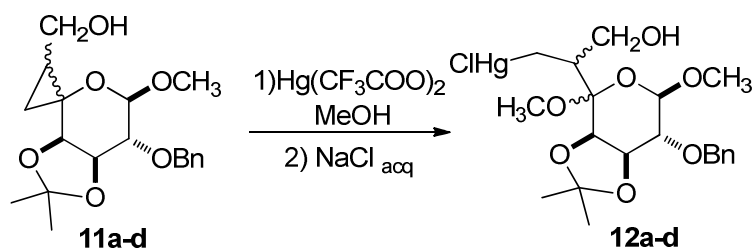
**Figura 3.12**

La struttura degli stereoisomeri è stata confermata dai dati NMR mono- e bidimensionali. Gli spettri  $^1\text{H}$ NMR di entrambi gli spiroaddotti **11a** e **11b** mostrano la scomparsa dei segnali relativi del gruppo carbossietilico e la comparsa dei due doppi doppietti ( $J_1 = 9.0$ ,  $J_2 = 11.4\text{Hz}$ ) a 3.91 e 3.26 ppm (**11a**) e a 3.26 e 3.92 ppm (**11b**), relativi al gruppo idrossimetilico.

Nello spettro  $^{13}\text{C}$  NMR, il carbonio dello stesso gruppo idrossimetilico risuona a 61.09 ppm (**11a**) e a 61.88 ppm (**11b**), mentre è assente il segnale del carbonile del gruppo estereo.

Esperimenti NOE bidimensionali hanno permesso di ricavare la stereochimica di **11a**. Il particolare l'irraggiamento del protone H-4 determina un effetto NOE (4.2%) sui segnali dei due protoni metilenici dell'anello ciclopropanico, mentre lo stesso effetto non si verifica sui segnali dei protoni del gruppo idrossimetilico. Nel derivato **11b**, dopo irraggiamento del protone H-4 si ha invece un effetto NOE (2.5 %) solo sui protoni del gruppo  $\text{CH}_2\text{OH}$ .

Successivamente è stata effettuata sulla miscela contenente i 4 diastereoisomeri **11a-d**, la reazione di apertura elettrofila dell'anello ciclopropanico, per trattamento con trifluoroacetato di mercurio in metanolo anidro seguita da scambio con soluzione satura di NaCl, che ha condotto, dopo purificazione per cromatografia flash, ad una miscela di derivati cloromercurici **12a-d** in un rapporto di 1:1:0.8:0.4 (Schema 3.12).

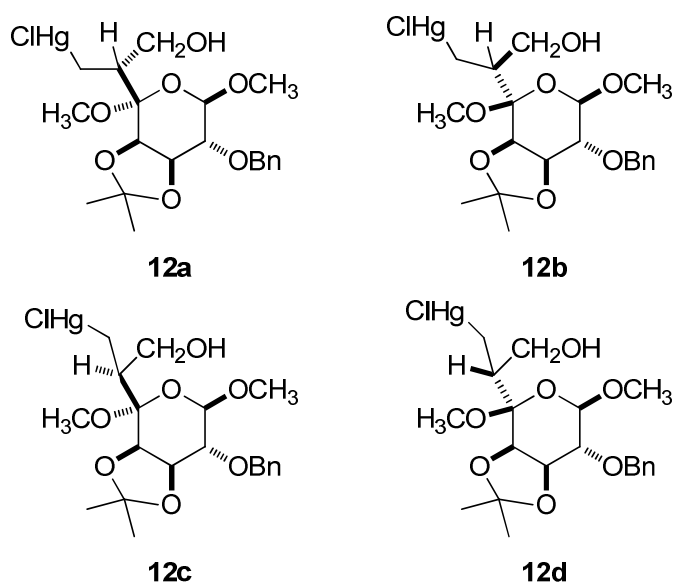


Schema 3.12

La reazione di apertura procede con un'alta regioselettività, dovuta all'attacco del metanolo sul C-5 dell'anello piranosidico, come risulta dagli spettri  $^1\text{H}$ NMR del grezzo di reazione che mostrano la scomparsa dei segnali caratteristici dell'anello spirociclopropanico e la comparsa di quattro singoletti che risuonano nell'intervallo compreso tra 3.20 e 3.30 ppm, relativi ai protoni del gruppo metossilico in posizione 5.

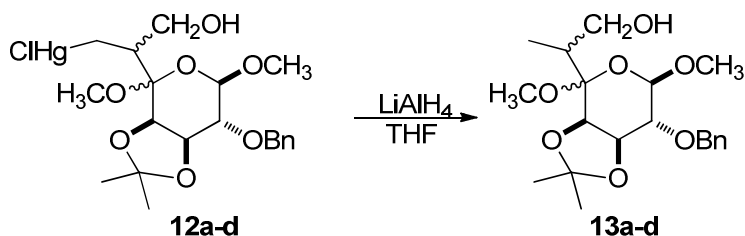
Attraverso una purificazione per HPLC sono stati separati i quattro diastereoisomeri, e con l'ausilio di dati NMR mono- e bidimensionali, è stata assegnata la stereochimica

(Figura 3.13).



**Figura 3.13**

Successivamente è stata realizzata la demercuriazione riduttiva dei bis-glicosidi **12a-d**, utilizzando  $\text{LiAlH}_4$  in THF, ottenendo una miscela dei composti **13a-d** (Schema 3.12).



**Schema 3.12**

Gli spettri  $^1\text{H}$ NMR del grezzo mostrano nell'intervallo compreso tra 3.32 e 3.36 ppm, la presenza dei quattro singoletti relativi ai protoni del gruppo metossilico in posizione 5, dalla cui integrazione è stato ricavato il rapporto tra i quattro stereoisomeri 1:1:0.8:0.4.

La miscela è stata separata nei singoli componenti mediante HPLC: gli spettri  $^1\text{H}$ NMR dei composti puri mostrano i due protoni del  $\text{CH}_2\text{OH}$  sotto forma di doppi doppietti (con accoppiamenti compresi tra  $J_1 = 3.5$ ,  $J_2 = 7.0$ ,  $J_3 = 1.0$  Hz) a valori di ppm compresi tra 3.55 e 3.94 ppm, e il protone H-6 risuona come multipletto a 2.45 ppm ( $J_1 = 7.0$ ,  $J_2 = 13.0$  Hz) per **13a**, a 2.66 ppm ( $J_1 = 3.5$ ,  $J_2 = 7.0$ ,  $J_3 = 11.0$  Hz) per **13b**, a 2.36 ppm ( $J_1 = 4.5$ ,  $J_2 = 7.0$ ,  $J_3 = 11.5$  Hz) per **13c**, ed a 2.31 ppm ( $J_1 = 3.5$ ,  $J_2 = 7.5$ ,  $J_3 = 10.5$  Hz) per **13d**.

Gli esperimenti NOE hanno permesso di ricavare la stereochimica del C-5, mentre quella al C-6 è stata ricavata dai corrispondenti addotti spirociclopropanati (Figura 3.13).

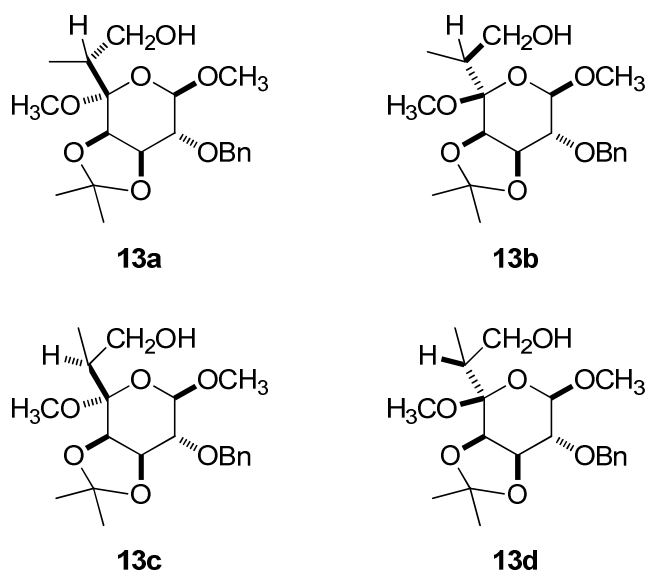
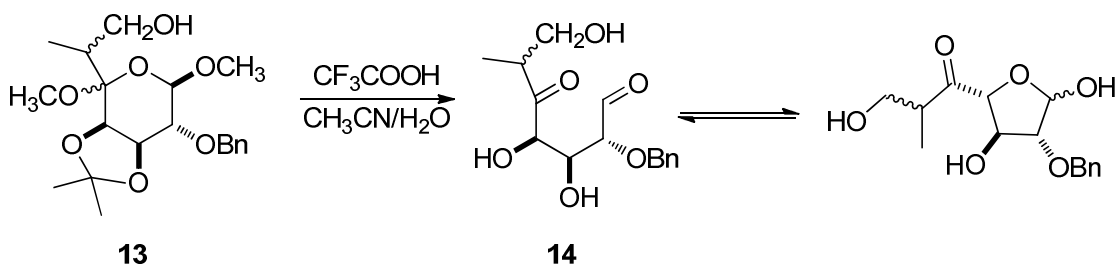


Figura 3.13

Infine la reazione di idrolisi ( $\text{CF}_3\text{COOH}/\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{CN}$  0.1:0.5:1) ha condotto ad una miscela diastereomerica di 6-deossi-6-metil-D,L-*arabino*-eptos-5-ulosio **14**, il cui spettro  $^1\text{H}$  NMR, eseguito in  $\text{CD}_3\text{CN}-\text{D}_2\text{O}$ , risulta ulteriormente complicato dalla presenza di equilibri anomerici in rapida interconversione rivelata da doppietti nel range compreso tra 1.08 e 1.14 ppm ( $J = 7.0\text{--}7.5$  Hz) dei protoni dei gruppi metilici. Ciò indica che l'eptos-5-ulosio **14** esiste esclusivamente sotto forma di una miscela di 1:2  $\alpha$ -e  $\beta$ -furanosi con l'H-1 che risuona come due doppietti centrati a 5.50 ppm ( $J = 0.5$  Hz) e a 5.48 ppm ( $J = 3.5$  Hz) rispettivamente (Schema 3.13).



Schema 3.13

#### 4. Conclusioni

La strategia sintetica qui riportata rappresenta un metodo semplice e conveniente per convertire il lattosio in molecole di interesse biologico/farmaceutico, come gli aza-disaccaridi.

Il prodotto **2** è stato preparato attraverso la reazione di ciclopropanazione condotta con il metodo di Simmons-Smith, secondo la modifica di Furukawa, con buona stereoselettività garantendo la produzione del derivato ciclopropanato *sin* rispetto al gruppo sostituyente presente in posizione 3 del sistema piranosidico.

L'anello ciclopropanico così introdotto fornisce un importante centro reattivo suscettibile a manipolazioni chimiche quali l'apertura di anello, con formazione di zuccheri piranosici contenenti una catena laterale stereochimicamente definita, oppure l'espansione di anello, che porta a sistemi ossepanici a sette termini riscontrabili in natura.

In particolare, in questo lavoro di tesi è stata presa in considerazione la reazione di apertura dell'anello, condotta mediante reazione di alcossimercuriazione-demercuriazione, finalizzata all'introduzione di un sostituyente metilico sulla porzione galatto del disaccaride. Ciò ha portato al derivato bisglicosidico **4**, che sottoposto ad idrolisi ha permesso di ottenere il prodotto 4'-metil-4'-deossi **5**. Il composto dicarbonilico **5** ottenuto è stato infine sottoposto ad una doppia amminazione riduttiva con un 6-amino- $\alpha$ -galattopiranoside che ha condotto all'aza-disaccaride **8**. Con lo scopo di ottenere nuovi aza-disaccaridi è stato sintetizzato un ulteriore composto dicarbonilico **14** che mostra un atomo di carbonio in più nella catena principale. Questi approcci sintetici rappresentano nuove strategie che permettono la valorizzazione chimica del lattosio per l'ottenimento di composti con potenziale attività anti-diabetica.



## 5. Parte sperimentale

### 5.1 Materiali e Metodi

I punti di fusione sono stati determinati al microscopio su apparecchio Kofler, senza ulteriore correzione. Le misure del potere rotatorio sono state effettuate con un polarimetro Perkin-Elmer mod. 241, alla temperatura di  $20^{\circ}\text{C} \pm 2$ . Gli spettri  $^1\text{H}$ -NMR sono stati determinati su soluzioni dei solventi riportati caso per caso usando in ciascuno caso il tetrametilsilano, (TMS) come riferimento interno, con uno strumento Bruker AC 200 a 200 MHz e con uno strumento Varian Unity Inova a 50 MHz. Gli spettri  $^{13}\text{C}$ -NMR sono stati determinati con uno strumento Bruker AC 200 a 500 MHz. Tutte le reazioni sono state seguite tramite TLC su fogli di silice supportata su alluminio di tipo DC-Alufolien Kieselgel 60 F254. La rivelazione dei composti è stata effettuata sia con lampada UV (245 nm) sia immergendo i fogli in una soluzione al 10% di acido solforico in EtOH, o in una soluzione al 10% di acido fosfomolibdico in EtOH, e riscaldando. Per le cromatografie su colonna a pressione atmosferica è stata usata silice Kieselgel 60 Merk (70-230 mesh) mentre per le flash cromatografie silice Kieselgel Macherey-Nagel (230-400 mesh). I solventi utilizzati per i processi di purificazione (cromatografia su colonna, cristallizzazione, ecc.) sono stati usati dopo distillazione in accordo con le procedure standard e conservati su setacci molecolari di 4 Å attivati almeno per 24h a  $400^{\circ}\text{C}$ . I solventi anidri usati nelle reazioni sono quelli commerciali Aldrich, garantiti anidri e confezionati in bottiglie con tappo di gomma “Sure-Seal”, essi sono stati utilizzati senza ulteriore purificazione. Come agente essiccante delle soluzioni è stato usato il  $\text{MgSO}_4$ .

**Preparazione del 4-*O*-[(1*R*,3*R*,4*R*,5*S*,6*R*)-4-Benzilossi-1-benzilossimetil-2-ossabicyclo[4.1.0]eptan-3-yl]-2,3:5,6-di-*O*-isopropilidene-aldeido-D-glucosio dimetilacetale (2).**

Ad una soluzione del 4-esenopiranoside **1** (1.36 mmol, 0.860 g) in etere dietilico anidro (Et<sub>2</sub>O, 4.9 ml), sotto agitazione magnetica ed in fiala chiusa, sono stati aggiunti a temperatura ambiente, dietilzinco (Et<sub>2</sub>Zn) (6.82 ml, 41 mmol) e diiodometano (CH<sub>2</sub>I<sub>2</sub>) (0.55 ml, 6.8 mmol). La soluzione è stata riscaldata a 40°C e dopo 3 h è stata aggiunta una soluzione satura di NaHCO<sub>3</sub> (3.10 ml), HCl 1M ed infine è stata effettuata una estrazione con Et<sub>2</sub>O (3 x 10 ml); le fasi organiche sono state riunite, anidificate con solfato di sodio, ed evaporate, fornendo un grezzo di 1.33 g. La purificazione per flash cromatografia (Cy/AcOEt 40%) ha portato al derivato ciclopropanato **2** con una resa del 65% (0.2045 mmol, 0.132 g).

**Metossimercuriazione di 2**

Ad una soluzione di **2** (1.01 g, 1.57 mmol) in 16.13 ml di MeOH anidro è stato aggiunto trifluoroacetato di mercurio (II) [Hg(OCOCF<sub>3</sub>)<sub>2</sub>] (1.89 g, 4.10 mmoli). La miscela di reazione è stata agitata per 2 ore, sotto atmosfera di N<sub>2</sub>, a temperatura ambiente. In seguito è stata aggiunta una soluzione satura di NaCl, ed è stato ottenuto il derivato organomercurico **3**, sottoposto alla successiva demercuriazione, senza previa purificazione.

**4-*O*-[2',6'-di-*O*-benzil-4'-(metilcloromercurio)-4'-deossi-5'-*C*-metossi-β-D-galattopiranosil]-2,3:5,6-di-*O*-isopropiliden-aldeido-D-glucosio dimetil acetale (3)**

Sciropo, resa 98%,  $[\alpha]_D^{25} = +110.5$  (*c* 0.1, CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1.29 (t, 1H, *J* = 12.5 Hz, H<sub>7a</sub>), 1.54 (dd, 1H, *J* = 5.5, 12.5 Hz, H<sub>7b</sub>), 2.58 (dt, 1H, *J* = 5.5 12.5 Hz, H<sub>4</sub>), 3.21 (dd, 1H, *J* = 7.5, 10.0 Hz, H<sub>2</sub>), 3.23 (s, 3H, C<sub>5</sub>OCH<sub>3</sub>), 3.39 (B di AB, 1H, *J* = 11.0 Hz, H<sub>6a</sub>), 3.51 (s, 3H, C<sub>1</sub>OCH<sub>3</sub>), 3.58 (A di AB, 1H, *J* = 11.0 Hz, H<sub>6b</sub>), 4.32 (dd, 1H, *J* = 5.0, 10.0 Hz, H<sub>3</sub>), 4.45 (d, 1H, *J* = 7.5 Hz, H<sub>1</sub>), 4.51-4.58 (AB, 2H, *J* = 12.0 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.59 (A di AB, 1H, *J* = 11.5 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.89 (A di AB, 1H, *J* = 11.5 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 7.26-7.39 (m, 10H, H Ar); <sup>13</sup>C NMR (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 20.11 (C<sub>7</sub>), 42.65 (C<sub>4</sub>), 48.37 (C<sub>5</sub>-OCH<sub>3</sub>), 56.91 (C<sub>1</sub>-OCH<sub>3</sub>), 65.37 (C<sub>6</sub>), 66.97 (C<sub>3</sub>), 73.30 e 74.15 (CH<sub>2</sub>Ph), 78.52 (C<sub>2</sub>), 101.07 (C<sub>1</sub>), 102.47 (C<sub>5</sub>), 128.02, 128.21, 128.46, e 128.60 (CH Ar), 137.19 e 137.92 (C Ar); Anal.: Calc. per C<sub>23</sub>H<sub>29</sub>HgClO<sub>6</sub> C 43.33, H 4.59%; Trovata: C 43.40, H 4.61%; MS (EI) *m/z*: 637.52 (M<sup>+</sup>).

### Demercuriazione di **3**

Ad una sospensione di litio alluminio idruro ( $\text{LiAlH}_4$ ) (2.4 eq, 0.8045 mmol, 30.50 mg) in THF dry è stata aggiunta, goccia a goccia ed in bagno di ghiaccio, una soluzione del substrato **3** (0.3352 mmol, 0.2997 g) in THF dry. La reazione, mantenuta a 0° C, è stata lasciata sotto agitazione magnetica ed in atmosfera di  $\text{N}_2$  per due ore. A reazione completata, è stato aggiunto THF (6.64 ml),  $\text{H}_2\text{O}$  (29.96  $\mu\text{l}$ ), una soluzione acquosa di NaOH 15% (29.96  $\mu\text{l}$ ),  $\text{H}_2\text{O}$  (90.50  $\mu\text{l}$ ). Il risultante precipitato flocculante è stato agitato per 30 minuti e poi filtrato su Celite con AcOEt. Il filtrato è stato concentrato sotto vuoto. La purificazione del grezzo mediante flash cromatografia (Cy/AcOEt 25%) ha fornito il bis-glicoside **4** (0.2583 mmol, 0.1795 g) con una resa del 77%.

### **4-O-[2',6'-di-O-benzil-4'-deossi-4'-metil-5'-C-metossi- $\beta$ -D-galattopiranosil]-2,3:5,6-di-O-isopropiliden -aldeido-D-glucosio dimetil acetale (**4**)**

Sciropo, resa 96%,  $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -26.7$  ( $c = 0.3$ ,  $\text{CHCl}_3$ );  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.38-7.28 (m, 10H, H Ar), 4.92 (A di AB, 1H,  $J = 11.5$  Hz,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 4.63 (B di AB, 1H,  $J = 11.5$  Hz,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 4.57 (AB, 2H,  $J = 12.0$  Hz,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 4.49 (d, 1H,  $J = 8.0$  Hz,  $\text{H}_1$ ), 4.17 (ddd, 1H,  $J = 2.5, 5.0, 7.5$  Hz,  $\text{H}_3$ ), 3.60 (A di AB, 1H,  $J = 10.5$  Hz,  $\text{H}_{6a}$ ), 3.53 (s, 3H,  $\text{C}_1\text{-OCH}_3$ ), 3.36 (B di AB, 1H,  $J = 10.5$  Hz,  $\text{H}_{6b}$ ), 3.33 (dd, 1H,  $J = 2.5, 8.0$  Hz,  $\text{H}_2$ ), 3.26 (s, 3H,  $\text{C}_5\text{-OCH}_3$ ), 2.58 (d, 1H,  $J = 2.5$  Hz, OH), 2.44 (dd, 1H,  $J = 5.0, 7.0$  Hz,  $\text{H}_4$ ), 0.98 (d, 3H,  $J = 7.0$  Hz,  $\text{CH}_3$ );  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.39 ( $\text{CH}_3$ ), 38.74 ( $\text{C}_4$ ), 47.95 ( $\text{C}_5\text{-OCH}_3$ ), 56.70 ( $\text{C}_1\text{-OCH}_3$ ), 65.65 ( $\text{C}_6$ ), 68.92 ( $\text{C}_3$ ), 73.20 e 74.20 ( $\text{PhCH}_2$ ), 79.58 ( $\text{C}_2$ ), 101.01 ( $\text{C}_1$ ), 101.65 ( $\text{C}_5$ ), 127.52, 127.70, 127.88, 128.21, e 128.25 (CH Ar), 137.40 e 138.40 (C Ar); Anal. Calc. per  $\text{C}_{23}\text{H}_{30}\text{O}_6$  C 68.64, H 7.51%; Trovata: C 68.60, H 7.49%; MS (EI)  $m/z$ : 402.48 ( $\text{M}^+$ ).

### Sintesi dell'1-5 dicarbonilico **5**

Al derivato **4** (0.4085 g, 0.56 mmol) solubilizzato in una miscela  $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$  4:1 (9 ml) è stato aggiunto acido trifluoroacetico ( $\text{CF}_3\text{CO}_2\text{H}$ ) (2 eq, 1.12 mmol, 0.086 ml). La reazione è stata condotta a temperatura ambiente e lasciata per tutta la notte. Verificata la formazione del prodotto mediante TLC (Cy/AcOEt 50%), il solvente è stato evaporato a pressione ridotta e la miscela di reazione sottoposta ad estrazione con  $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , permettendo così la separazione del composto 1,5 dicarbonilico dal glucosio libero. La fase acquosa è stata ripetutamente estratta con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ; e le fasi organiche riunite, anidificate con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , filtrate ed infine concentrate sotto vuoto. Il grezzo è stato purificato mediante flash cromatografia (Cy/AcOEt 50%) e permette di ricavare il derivato **5** puro (0.106 g, 0.30 mmol) con una resa del 55%.

### **2,6-di-*O*-benzil-4-deossi-4-metil-L-arabino-esos-5-ulosio (5)**

Olio di colore giallo, resa 50%;  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{CN}/\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  7.43-7.28 (m, 20H, H Ar  $\alpha$ ,  $\beta$ ), 5.44 (d, 1H,  $J = 1.0$  Hz,  $\text{H}_1\beta$ ), 5.34 (d, 1H,  $J = 5.0$  Hz,  $\text{H}_1\alpha$ ), 4.88 (  $\frac{1}{2}$  AB, 1H,  $J = 11.5$  Hz,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 4.75 (  $\frac{1}{2}$  AB, 1H,  $J = 11.5$  Hz,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 4.55 (  $\frac{1}{2}$  AB, 1H,  $J = 11.5$  Hz,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 4.54 (  $\frac{1}{2}$  AB, 1H,  $J = 11.5$  Hz,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 4.32-4.20 (AB, 2H,  $J = 18.0$  Hz,  $\text{H}_6$ ), 4.23-4.15 (AB, 2H,  $J = 18.0$  Hz,  $\text{H}_6$ ), 4.11 (dd, 1H,  $J = 1.5, 10.0$  Hz,  $\text{H}_3\beta$ ), 3.78 (dd, 1H,  $J = 1.5, 9.0$  Hz,  $\text{H}_3\alpha$ ), 3.38 (dd, 1H,  $J = 1.5, 5.0$  Hz,  $\text{H}_2\alpha$ ), 3.28 (t, 1H,  $J = 1.5$  Hz,  $\text{H}_2\beta$ ), 3.18 (dd, 1H,  $J = 7.0, 10.0$  Hz,  $\text{H}_4\beta$ ), 2.95 (dd, 1H,  $J = 7.0, 9.0$  Hz,  $\text{H}_4\alpha$ ), 0.87 (d, 3H,  $J = 7.0$  Hz,  $\text{CH}_3\beta$ ), 0.84 (d, 3H,  $J = 7.0$  Hz,  $\text{CH}_3\alpha$ );  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{CN}/\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  12.2, 13.8, 42.9, 44.8, 72.8, 73.1, 73.7, 74.0, 74.6, 76.4, 76.7, 77.9, 79.1, 91.1, 94.2, 128.6, 128.7, 128.8, 128.9, 128.9, 129.0, 129.1, 129.2, 129.3, 129.4, 129.5, 128.6, 139.2, 139.8, 212.3, 212.7; Anal. Calc. per  $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{O}_5$  C 70.77, H 6.79%; Trovata: C 70.86, H 6.81%; MS (EI)  $m/z$ : 356.41 ( $\text{M}^+$ ).

### **Amminazione riduttiva**

Ad una soluzione di 6-amino- $\alpha$ -galattopiranoside **6** (720 mg, 2.23 mmol) e  $\text{CH}_3\text{COOH}$  (0.13 mL, 2.23 mmol) in MeOH anidro (25 mL) a  $-78^\circ\text{C}$  è stata aggiunta lentamente una soluzione di **5** (990 mg, 2.78 mmol) in MeOH anidro (25 mL) seguita dall'aggiunta, dopo 15 minuti, di una soluzione di  $\text{NaBH}_3\text{CN}$  (350 mg, 5.60 mmol) in MeOH (20 mL). La reazione è stata condotta sotto atmosfera di  $\text{N}_2$  a  $-78^\circ\text{C}$  per due ore. Successivamente è stata agitata magneticamente a temperatura ambiente per 48 ore, ed in seguito è stato evaporato il solvente a pressione ridotta ed il residuo ottenuto, è stato trattato con una soluzione satura di  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (10 mL). La miscela di reazione è stata sottoposta ad estrazione con  $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . La fase acquosa è stata ripetutamente estratta con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , le fasi organiche riunite, anidrificate con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , filtrate ed infine concentrate sotto vuoto. Il grezzo è stato purificato mediante flash cromatografia (Cy/AcOEt 50%) ed ha condotto ad una miscela di **7a** e **7b** in rapporto 84:16 con il 75% di resa. La miscela anomerica è stata in seguito purificata per HPLC (n-esano/2-propanolo 9:1) per dare **7a** e **7b** come composti puri.

### ***N*-(6-Deossi-1-*O*-metil-6- $\alpha$ -D-galactopiranosil)-2,6-di-*O*-benzil-1,4-dideossi-4-*C*-metilgalatto nojirimicina (7a)**

Resa 63.3%  $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -64.5$  ( $c$  1.21,  $\text{CHCl}_3$ ).  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  0.92 (d,  $J = 7.2$  Hz, 3 H, Me), 2.20 (dd,  $J = 7.3, 12.0$  Hz, 1H, 1'-a-H), 2.28 (tq,  $J = 4.2, 7.2$  Hz, 1 H, 4'-H), 2.70 (m, 1 H, 5'-H), 2.71 (m, 1 H, 6a-H), 3.00 (dd,  $J = 10.5, 12.5$  Hz, 1 H, 6b-H),

3.21 (dd,  $J = 3.7, 12.0$  Hz, 1 H, 1'b-H), 3.29 (t,  $J = 9.2$  Hz, 1 H, 4-H), 3.34 (s, 3 H, OMe), 3.45 (dt,  $J = 3.7, 7.3$  Hz, 1 H, 2'-H), 3.49 (dd,  $J = 3.8, 9.2$  Hz, 1 H, 2-H), 3.55 (dd,  $J = 4.2, 7.3$  Hz, 1 H, 3'-H), 3.57–3.61 (m, 3 H, 6'-H and 5-H), 3.72 (t,  $J = 9.2$  Hz, 1 H, 3-H), 4.47 (d,  $J = 11.8$  Hz, 1 H, C-2–OCH<sub>2</sub>Ph), 4.51 (d,  $J = 11.8$  Hz, 1 H, C-2–OCH<sub>2</sub>Ph), 4.59 (d,  $J = 11.7$  Hz, 1 H, C-6–OCH<sub>2</sub>Ph), 4.60 (d,  $J = 11.7$  Hz, 1 H, C-6–OCH<sub>2</sub>Ph), 4.67 (d,  $J = 3.8$  Hz, 1 H, 1-H), 7.25–7.35 (m, 10 H, Ar). <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  10.1 (Me), 35.9 (C-4'), 54.0 (C-1'), 55.4 (OMe), 56.8 (C-6), 62.3 (C-5'), 65.5 (C-5), 69.7 (C-6'), 71.8 (C-2), 72.1 (CH<sub>2</sub>Ph), 72.7 (C-3'), 73.4 (CH<sub>2</sub>Ph), 73.6 (C-3), 76.0 (C-4), 76.3 (C-2'), 99.4 (C-1), 127.8, 127.9, 128.1, 128.4, 128.5, 128.6 (CH Ar), 137.3, 138.2 (C Ar). HRMS: Calc. per C<sub>28</sub>H<sub>39</sub>NO<sub>8</sub> [M]<sup>+</sup> 517.6111; Trovata 517.6110.

***N*-(6-Deossi-1-*O*-metil-6- $\alpha$ -D-galactopiranosil)-2,6-di-*O*-benzil-1,4-dideossi-4-*C*-metilgalatto nojirimicina (7b)**

Resa 11.7% [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>25</sup> = +18 ( $c$  1.13, CHCl<sub>3</sub>). <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  0.86 (d,  $J = 6.9$  Hz, 3 H, Me), 2.11 (dd,  $J = 4.2, 12.0$  Hz, 1 H, 1'a-H), 2.18 (ddq,  $J = 5.4, 6.9, 8.4$  Hz, 1 H, 4'-H), 2.90 (m, 1 H, 6a-H), 2.94 (m, 1 H, 5-H), 3.21 (t,  $J = 9.2$  Hz, 1 H, 4-H), 3.22 (dd,  $J = 3.1, 12.0$  Hz, 1 H, 1'b-H), 3.25 (s, 3 H, OMe), 3.42 (dd,  $J = 10.3, 12.4$  Hz, 1 H, 6b-H), 3.46 (dt,  $J = 3.1, 4.2$  Hz, 1 H, 2'-H), 3.53 (dd,  $J = 3.8, 9.6$  Hz, 1 H, 2-H), 3.93 (dd,  $J = 4.2, 5.4$  Hz, 1 H, 3-H), 3.53–3.58 (m, 3 H, 6'-H and 5-H), 3.82 (t,  $J = 9.2$  Hz, 1 H, 3-H), 4.42 (d,  $J = 11.7$  Hz, 1 H, C-2–OCH<sub>2</sub>Ph), 4.49 (d,  $J = 11.7$  Hz, 1 H, C-2–OCH<sub>2</sub>Ph), 4.51 (d,  $J = 4.8$  Hz, 1 H, 1-H), 4.59 (d,  $J = 11.6$  Hz, 1 H, C-6–OCH<sub>2</sub>Ph), 4.64 (d,  $J = 11.6$  Hz, 1 H, C-6–OCH<sub>2</sub>Ph), 7.25–7.35 (m, 10 H, H Ar). <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  7.1 (Me), 37.3 (C-4'), 46.5 (C-1'), 55.1 (OMe), 56.2 (C-6), 62.9 (C-5'), 66.9 (C-5), 67.9 (C-6'), 71.8 (C-3'), 71.9 (C-3), 72.3 (CH<sub>2</sub>Ph), 72.5 (C-4), 73.4 (CH<sub>2</sub>Ph), 74.6 (C-2), 75.3 (C-2'), 100.9 (C-1), 127.5, 128.1, 128.3, 128.5, 128.9, 129.2 (CH Ar), 137.0, 137.9 (C Ar) ppm. HRMS: Calc. per C<sub>28</sub>H<sub>39</sub>NO<sub>8</sub> [M]<sup>+</sup> 517.6111; Trovata 517.6109.

**Debenzilazione di 7a e 7b**

Ad una soluzione di **7** (60 mg 0,11 mmol) in MeOH (2 mL) è stata aggiunta una punta di spatola di 10% Pd/C e la sospensione è stata agitata su un apparecchio Parr sotto una pressione di idrogeno di 90 psi. Dopo 36 h, la miscela di reazione è stata filtrata su Celite, ed il filtrato evaporato a pressione ridotta ha fornito il grezzo di reazione. Attraverso una cromatografia flash (H<sub>2</sub>O/ CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH 4:2:1) sono stati ottenuti i composti **8a** e **8b**.

***N*-(6-Deossi-1-*O*-metil-6- $\alpha$ -D-galattopiranosil)-1,4-dideossi-4-*C*-metilgalattono-jirimicina (8a)**

Resa 85%, cristalli incolori; p.f. 139–140 °C.  $[\alpha]_D^{25} = -31$  (*c* 1.03, CHCl<sub>3</sub>). <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  0.94 (d, *J* = 7.0 Hz, 3 H, Me), 2.22 (tq, *J* = 4.5, 7.0 Hz, 1 H, 4'-H), 2.26 (dd, *J* = 10.1, 11.6 Hz, 1 H, 1'a-H), 2.61 (ddd, *J* = 5.0, 5.8, 7.0 Hz, 1 H, 5'-H), 2.62 (dd, *J* = 6.5, 14.1 Hz, 1 H, 6a-H), 2.99 (dd, *J* = 9.2, 14.1 Hz, 1 H, 6b-H), 3.18 (t, *J* = 9.2 Hz, 1 H, 4-H), 3.22 (dd, *J* = 4.5, 11.6 Hz, 1 H, 1'b-H), 3.36 (dd, *J* = 3.8, 9.7 Hz, 1 H, 2-H), 3.38 (dd, *J* = 4.5, 7.9 Hz, 1 H, 3'H), 3.42 (s, 3 H, OMe), 3.59 (t, *J* = 9.2 Hz, 1 H, 3-H), 3.61 (ddd, *J* = 4.5, 7.9, 10.1 Hz, 1 H, 2'-H), 3.63 (dd, *J* = 5.0, 11.5 Hz, 1 H, 6'a-H), 3.69 (dt, *J* = 6.5, 9.2 Hz, 5-H), 3.85 (dd, *J* = 5.8, 11.5 Hz, 1 H, 6\_b-H), 4.63 (d, *J* = 3.8 Hz, 1 H, 1-H). <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  9.1 (Me), 37.1 (C-4'), 54.6 (C-6), 55.7 (OMe), 56.2 (C-1'), 62.0 (C-6'), 65.8 (C-5'), 69.0 (C-2'), 70.0 (C-5), 73.2 (C-2), 74.5 (C-3), 75.2 (C-4), 76.0 (C-') 101.1 (C-1). HRMS: Calc. per C<sub>14</sub>H<sub>27</sub>NO<sub>8</sub> [M]<sup>+</sup> 337.3660; Trovata 337.3659.

***N*-(6-Deossi-1-*O*-metil-6- $\alpha$ -D-galattopiranosil)-1,4-dideossi-4-*C*-metilgalattono-jirimicina (8b)**

Resa 83%, cristalli incolori; p.f. 125–127 °C.  $[\alpha]_D^{25} = +20$  (*c* 0.98, CHCl<sub>3</sub>). <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  0.90 (d, *J* = 7.0 Hz, 3 H, Me), 2.14 (ddq, *J* = 5.3, 7.0, 8.6 Hz, 1 H, 4'-H), 2.20 (dd, *J* = 9.9, 11.5 Hz, 1 H, 1'a-H), 2.75–2.79 (m, 2 H, 5'-H, 6a-H), 2.96 (dd, *J* = 4.8, 11.5 Hz, 1H, 1'b-H), 3.12 (t, *J* = 7.5 Hz, 1 H, 4-H), 3.25 (dd, *J* = 9.0, 13.6 Hz, 1 H, 6b-H), 3.29 (s, 3 H, OMe), 3.45 (dd, *J* = 4.8, 9.0 Hz, 1 H, 2-H), 3.63 (ddd, *J* = 4.8, 7.9, 9.9 Hz, 1 H, 2'-H), 3.70 (dd, *J* = 7.5, 9.0 Hz, 1 H, 3-H), 3.77 (dd, *J* = 5.3, 7.9 Hz, 1 H, 3'-H), 3.79–3.84 (m, 3 H, 5-H, 6'-H), 4.45 (d, *J* = 4.8 Hz, 1 H, 1-H). <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 27 °C):  $\delta$  = 8.5 (Me), 37.2 (C-4'), 52.2 (C-1'), 54.1 (C-6), 55.0 (OMe), 60.1 (C-6'), 65.9 (C-5'), 67.8 (C-2'), 71.7 (C-5), 72.0 (C-4), 72.7 (C-3), 75.4 (C-2), 75.8 (C-3'), 102.6 (C-1). HRMS Calc.. per C<sub>14</sub>H<sub>27</sub>NO<sub>8</sub> [M]<sup>+</sup> 337.3660; Trovata 337.3661.

**Sintesi dei carbossietil 5-spirogalattopiranosidi 10**

Ad una sospensione di **9** (900 mg; 2,89 mmoli), e Rh(OAc)<sub>2</sub> (24,68 mg; 0.33 mmoli) in 4.6 ml di CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> anidro, è stata aggiunta, goccia a goccia, una soluzione contenente EDA (0.257 g; 2.25 mmoli) in 20,57 ml di CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> anidro, sotto atmosfera di azoto. L'aggiunta del reattivo è avvenuta alla temperatura di 0 °C, mantenendo sotto agitazione magnetica per 5 ore. Dopo la scomparsa del prodotto di partenza (TLC cicloesano/acetato di etile 30%), il grezzo di reazione è stato filtrato su celite, quindi concentrato a pressione ridotta,

e purificato mediante MPLC. Sono stati ottenuti 700 mg contenenti la miscela di composti **10a-d** con una resa del 77.8%.

#### **Riduzione dei carbossietil 5-spirogalattopiranosidi 10a-d**

Ad una sospensione di LiAlH<sub>4</sub> (338 mg; 8,92 mmoli) in 8.4 ml di THF anidro, è stata aggiunta goccia a goccia sotto agitazione magnetica alla temperatura di 0 °C, una sospensione di **10a-d** (700 mg; 1,78 mmoli) in 3.5 ml di THF anidro. Ad aggiunta ultimata, dopo 5 ore, verificando la scomparsa del prodotto di partenza con TLC (cicloesano/acetato di etile 50%), sono stati aggiunti in sequenza: 1 ml di Et<sub>2</sub>O, 1 ml di NaOH al 10% (p/p) e 1 ml di H<sub>2</sub>O distillata. Il grezzo è stato successivamente filtrato su celite, privato del solvente ed estratto con una miscela H<sub>2</sub>O/AcOEt. Le frazioni organiche sono state riunite, anidificate con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, e concentrate sotto vuoto. Il grezzo così ottenuto è stato purificato mediante cromatografia a media pressione. Sono stati ottenuti 440 mg (1.26 mmoli) di prodotto **11a-d**, con una resa del 70.6%. Dopo una ulteriore purificazione per HPLC (n-esano/isopropanolo 9:1) sono stati ottenuti i composti **11a** e **11b** puri, e una miscela di **11c** e **11d**.

#### **[(1*S*,2*S*,3*a'**R*,6'*R*,7'*R*,7*a'**S*)-7'-(benzilossi)-6'-metossi-2',2'-dimetiltetraidrospiro[ciclopropano-1,4'-[1,3]diossolo[4,5-*c*]piran]-2-il]metanolo (11a)**

Di consistenza sciropposa; resa 22.5%; <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz) δ 7.40-7.25 (m, 5H, H Ar), 4.83-4.78 (sistema AB, 2H, *J* = 11.5 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.54 (d, 1H, *J* = 7.2 Hz, H<sub>1</sub>), 4.27 (dd, 1H, *J* = 6.5, 7.1 Hz, H<sub>3</sub>), 3.94 (dd, 1H, *J* = 5.3, 11.4 Hz CH<sub>2</sub>OH), 3.88 (d, 1H, *J* = 6.4 Hz, H<sub>4</sub>), 3.60 (dd, 1H, *J* = 9.0, 11.4 Hz, CH<sub>2</sub>OH), 3.58 (t, 1H, *J* = 7.3 Hz, H<sub>2</sub>), 3.46 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 1.67 (bs, 1H, OH), 1.41 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.33 (s, 3H, CH<sub>3</sub>) 1.25 (m, 1H, H<sub>7</sub>), 1.09 (dd, 1H, *J* = 6.4, 9.7 Hz, H<sub>6a</sub>), 0.86 (t, 1H, *J* = 6.4 Hz, H<sub>6b</sub>). <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 138.3 (C Ar), 128.2, 128.1, 127.5 (CH Ar), 190.9 (C(CH<sub>3</sub>)), 103.1 (C-1), 79.9 (C-2), 79.8 (C-3), 77.8 (C-4), 73.5 (CH<sub>2</sub>Ph), 61.1 (CH<sub>2</sub>OH), 58.5 (C-5), 55.1 (C-1-OCH<sub>3</sub>), 39.5 (C-7), 27.4 (CH<sub>3</sub>), 24.2 (CH<sub>3</sub>), 12.8 (C-6). Anal. Calc.. per C<sub>19</sub>H<sub>26</sub>O<sub>6</sub>: C 65.13, H 7.48, O 27.40. Trovata: C 65.15, H 7.46, O 27.42. PM: 350.17.

#### **[(1*R*,2*R*,3*a'**R*,6'*R*,7'*R*,7*a'**S*)-7'-(benzilossi)-6'-metossi-2',2'-dimetiltetraidrospiro[ciclopropano-1,4'-[1,3]diossolo[4,5-*c*]piran]-2-il]metanolo (11b)**

Di consistenza sciropposa; resa 29.5%; <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz) δ 7.40-7.24 (m, 5H, H Ar), 4.80(s, 2H, CH<sub>2</sub>Ph), 4.37 (d, 1H, *J* = 7.0 Hz, H<sub>1</sub>), 4.32 (t, 1H, *J* = 6.7 Hz, H<sub>3</sub>), 4.05

(d, 1H,  $J = 6.0$  Hz,  $H_4$ ), 3.92 (dd, 1H,  $J = 6.0, 11.7$  Hz  $CH_2OH$ ), 3.59 (t, 1H,  $J = 7.0$  Hz,  $H_2$ ), 3.40 (s, 3H,  $OCH_3$ ), 3.26 (dd, 1H,  $J = 9.5, 11.7$  Hz,  $CH_2OH$ ), 1.77 (bs, 1H, OH), 1.44 (s, 3H,  $CH_3$ ), 1.40 (ddd, 1H,  $J = 6.5, 10.1, 13.0$  Hz,  $H_7$ ), 1.35 (s, 3H,  $CH_3$ ) 1.29 (dd, 1H,  $J = 6.5, 10.1$  Hz,  $H_{6b}$ ), 0.87 (dd, 1H,  $J = 6.5, 13.0$  Hz,  $H_{6a}$ ).  $^{13}C$  NMR (125 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  138.1 (C Ar), 128.2, 128.1, 127.6 (CH Ar), 190.9 (C( $CH_3$ )), 103.3 (C-1), 79.8 (C-2), 79.7 (C-3), 78.4 (C-4), 73.5 ( $CH_2Ph$ ), 61.9 ( $CH_2OH$ ), 58.1 (C-5), 56.1 ( $OCH_3$ ), 39.5 (C-7), 27.6 ( $CH_3$ ), 26.3 ( $CH_3$ ), 14.4 (C-6). Anal. Calc. per  $C_{19}H_{26}O_6$ : C 65.13, H 7.48, O 27.40. Trovata C 65.16, H 7.46, O 27.42. PM: 350.17

**[(1*R*,2*S*,3*a'**R*,6'*R*,7'*R*,7*a'**S*)-7' e [(1*S*,2*R*,3*a'**R*,6'*R*,7'*R*,7*a'**S*)-7'--(benzilossi)-6'-metossi-2',2'-dimetiltetraidrospiro[ciclopropano-1,4'-[1,3]diossolo[4,5-*c*]piran]-2-il]metanolo (11c e 11d)**

Di consistenza sciropposa; resa 38%;  $^1H$ -NMR ( $CDCl_3$ , 200 MHz):  $\delta$  7.42-7.26 (m, 10H, H Ar), 4.85-4.76 (2 sistemi AB, ciascuno 2H,  $J = 11.5, 12.0$  Hz,  $CH_2Ph$ ), 4.62 (d, 1H,  $J = 7.0$  Hz,  $H_1$ ), 4.45 (d, 1H,  $J = 7.5$  Hz,  $H_1$ ), 4.30 (dd, 1H,  $J = 6.5, 7.0$  Hz,  $H_3$ ), 4.21 (dd, 1H,  $J = 7.0, 7.5$  Hz,  $H_3$ ), 3.96 (d, 1H,  $J = 6.5$  Hz,  $H_4$ ), 3.87 (m, 2H,  $CH_2OH$ ), 3.76 (d, 1H,  $J = 7.0$  Hz,  $H_4$ ), 3.60 (m, 2H,  $CH_2OH$ ), 3.58 (t, 1H,  $J = 7.0$  Hz,  $H_2$ ), 3.48 (s, 3H,  $OCH_3$ ), 3.32 (t, 1H,  $J = 7.5$  Hz,  $H_2$ ), 3.18 (s, 3H,  $OCH_3$ ), 2.54 (bs, 2H, OH), 1.85 (m, 1H,  $H_7$ ), 1.59 (m, 1H,  $H_7$ ), 1.42-1.34 (4  $\times$  s, ciascuno 3H,  $CH_3$ ), 0.99 (m, 1H,  $H_{6a}$ ), 0.86 (m, 1H,  $H_{6a}$ ), 0.81 (m,  $H_{6b}$ ), 0.63 (m,  $H_{6b}$ ). Anal. Calc. per  $C_{19}H_{26}O_6$ : C 65.13, H 7.48, O 27.40. Trovata.: C 65.18, H 7.43, O 27.46. PM: 350.17

**Metossimercuriazione dei 5-idrossimetil-spirogalattopiranosidi 11a-d**

Ad una soluzione di **11a-d** (440 mg, 1.26 mmoli) in 12.76 ml di MeOH anidro è stato aggiunto trifluoroacetato di mercurio (II)  $[Hg(OCOCF_3)_2]$  (865.72 mg, 2.02 mmoli), lasciando reagire sotto atmosfera di  $N_2$  a temperatura ambiente per 2 ore e controllando mediante TLC (cicloesano/acetato di etile, 20%) la scomparsa del prodotto di partenza e la formazione dei 4 derivati organo mercuriali ( $R_f = 0.25, 0.33$ ). La reazione è stata spenta per aggiunta di "brine", ed il grezzo è stato estratto ripetutamente con  $CH_2Cl_2$ ; le fasi organiche sono state riunite, anidificate con  $Na_2SO_4$ , filtrate ed infine concentrate sotto vuoto fornendo 320 mg della miscela dei derivati **12a-d** (0.52 mmoli, resa 40 %). Dal grezzo contenente la miscela **12a-d** mediante cromatografia a media pressione (acetato di etile/esano) è stata ottenuta la separazione del diastereoisomero **12d** (80 mg) dalla miscela contenente gli altri 3 diastereoisomeri **12a-c** (136.9 mg) separati in seguito con HPLC (isopropanolo/esano).



**Metil (6*R,S*)-2-*O*-benzil-6*C*-deossi-3,4-*O*-isopropiliden-5*C*-metossi-6-(metilcloro-mercurio)- $\beta$ -D-ga lattoeptopiranoside (12a)**

Di consistenza sciropposa; resa 18%;  $[\alpha]_D^{25} = +3$ , (c 0.5, CHCl<sub>3</sub>), <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz)  $\delta$  1.36 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.55 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.56 (dd, 1H,  $J = 7.5$  Hz, H<sub>8a</sub>), 1.73 (dd, 1H,  $J = 12.0, 5.0$  Hz, H<sub>8b</sub>), 2.65 (dd, 1H,  $J = 50.75$  Hz, H<sub>6</sub>), 3.30 (s, 3H, C-5-OCH<sub>3</sub>), 3.48 (s, 3H, C-5-OCH<sub>3</sub>), 3.61 (dd, 1H,  $J = 11.5, 7.6$  Hz, H<sub>7a</sub>), 3.78 (dd, 1H,  $J = 6.5, 11.5$  Hz, H<sub>7b</sub>), 4.07 (t, 1H,  $J = 8.0$  Hz, H<sub>2</sub>), 4.25 (dd, 1H,  $J = 8.0, 8.5$  Hz, H<sub>3</sub>), 4.35 (d, 1H,  $J = 8.5$  Hz, H<sub>4</sub>), 4.55 (d, 1H,  $J = 8.0$  Hz, H<sub>2</sub>), 4.74-4.83 (AB sistema, 2H,  $J_{AB} = 11.5$  Hz CH<sub>2</sub>Ph), 7.28-7.36 (m, 5H, H Ar). <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz)  $\delta$  24.9 (CH<sub>3</sub>), 26.7 (CH<sub>3</sub>), 24.5 (CH<sub>2</sub>Hg), 24.9 (CH<sub>3</sub>), 43.1 (C-6), 48.5 (C-5-OCH<sub>3</sub>), 56.2 (C-1-OCH<sub>3</sub>), 65.6 (C-7), 73.4 (CH<sub>2</sub>Ph), 74.0 (C-4, C-3), 80.0 (C-2), 101.5 (C-1), 102.6 (C-5), 111.6 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 127.5, 127.7, 128.8, 128.2 (CH Ar), 138.5 (C Ar). Anal. Calc. per C<sub>20</sub>H<sub>29</sub>ClHgO<sub>7</sub>: C 38.90, H 4.73; Trovata C 38.93, H 4.71; PM 617.48

**Metil (6*R,S*)-2-*O*-benzil-6*C*-deossi-3,4-*O*-isopropiliden-5*C*-metossi-6-(metilcloro-mercurio)- $\beta$ -D-ga lattoeptopiranoside (12b)**

Di consistenza sciropposa; resa 21%;  $[\alpha]_D^{25} = +5.711$  (c 0.8, CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz)  $\delta$  1.28 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.42 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.80-1.87/AB sistema, (2H  $J_{AB} = 12.5$  Hz, H<sub>8a</sub>, H<sub>8b</sub>), 2.48 (m, 1H, H<sub>6</sub>), 3.20 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.45 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.47 (dd, 1H,  $J = H_7, H_{7a}$ ), 3.75 (dd, 1H,  $J = 11.5, 2.0$  Hz, H<sub>7b</sub>), 4.03 (t, 1H,  $J = 7.5$  Hz, H<sub>2</sub>), 4.17 (d, 1H,  $J = 8.5$  Hz, H<sub>4</sub>), 4.24 (dd, 1H,  $J = 7.5, 8.5$  Hz, H<sub>3</sub>), 4.53 (d, 1H,  $J = 8.5$  Hz, H<sub>1</sub>), 4.68-4.75 (AB sistema, 2H,  $J_{AB} = 11.5$  Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 7.28-7.37 (m, 5H, H Ar). <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 125 Hz)  $\delta$  25.1 (CH<sub>3</sub>), 26.2 (CH<sub>3</sub>), 26.4 (CH<sub>2</sub>Hg), 42.1 (C-6), 48.4 (C-5-OCH<sub>3</sub>), 56.6 (OCH<sub>3</sub>), 63.3 (C-7-CH<sub>2</sub>OH), 72.3, 72.4 (CH<sub>3</sub>, CH<sub>4</sub>), 73.2 (CH<sub>2</sub>Ph), 80.4 (C-2), 101.2 (C-1), 101.4 (C-5), 111.1 (C), 127.5, 127.6, 127.7, 128.2 (CH Ar), 138.4 (C Ar). Anal. Calc. per C<sub>20</sub>H<sub>29</sub>ClHgO<sub>7</sub>: C 38.90, H 4.73. Trovata: C 38.87, H 4.74.

**Metil (6*R,S*)-2-*O*-benzil-6*C*-deossi-3,4-*O*-isopropiliden-5*C*-metossi-6-(metilcloro-mercurio)- $\beta$ -D-ga lattoeptopiranoside (12c)**

Di consistenza sciropposa; resa 24%;  $[\alpha]_D^{25} = -4.826$  (c 0.5, CHCl<sub>3</sub>), <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz)  $\delta$  1.34 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.39 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.83 (dd, 1H,  $J = 12.0, 6.5$  Hz, H<sub>7a</sub>), 1.90 (dd, 9H,  $J = 12.0, 6.5$  Hz, H<sub>7b</sub>), 2.06 (bs, 1H, OH), 2.65 (m, 1H, H<sub>6</sub>), 3.27 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>),

3.34 (t, 1H,  $J = 8.0$  Hz, H<sub>2</sub>), 3.56 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.81 (m, 2H, H<sub>7a</sub>, H<sub>7b</sub>), 4.10 (t, 1H,  $J = 5.5$  Hz, H<sub>4</sub>), 4.27 (dd, 1H,  $J = 8.0, 5.5$  Hz, H<sub>3</sub>), 4.44 (d, 1H,  $J = 8.0$  Hz, H<sub>1</sub>), 4.77-4.82 (AB sistema H,  $J_{AB} = 11.5$  Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 7.28-7.39 (m, 5H, H Ar); <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz)  $\delta$  24.5 (CH<sub>2</sub>Hg), 26.8 (CH<sub>3</sub>), 27.8 (CH<sub>3</sub>), 43.6 (C-6), 47.2 (C-5-OCH<sub>3</sub>), 57.0 (C-1-OCH<sub>3</sub>), 63.11 (C-7-CH<sub>2</sub>OH), 73.7 (CH<sub>2</sub>Ph), 74.7-78.2 e 78.3 (C-2, C-3 e C-4), 99.3 (C-1), 101.4 (C-5), 110.4 (C), 127.6, 127.7, 128.1 e 128.2 (CH Ar) 138.0 (C Ar). Anal. Calc.. per C<sub>20</sub>H<sub>21</sub>ClHg<sub>7</sub> C 38.90, H 4.73; Trovata. C 38.95, H 4.75; PM 617,48.

**Metil (6*R,S*)-2-*O*-benzil-6*C*-deossi-3,4-*O*-isopropiliden-5*C*-metossi-6-(metilcloro-mercurio)  $\beta$ -D-ga lattotopiranoside (12d)**

Di consistenza sciropposa; resa 37%;  $[\alpha]_D^{25} = -6,361$  (c 1.3, CHCl<sub>3</sub>), <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz)  $\delta$  1.36 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.38 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.92 (dd, 1H,  $J = 12.5, 8.0$  Hz, H<sub>8a</sub>), 2.00 (dd, 1H,  $J = 12.5, 6.5$  Hz, H<sub>8b</sub>), 2.19 (bs, 1H, OH), 2.73 (m, 1H, H<sub>6</sub>), 3.23 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.40 (t, 1H,  $J = 8.0$  Hz, H<sub>2</sub>), 3.61 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.64 (m, 1H, H<sub>7</sub>), 3.92 (dd, 1H,  $J = 10.5, 5.0$  Hz, H<sub>7b</sub>), 4.12 (d, 1H,  $J = 5.5$  Hz, H<sub>4</sub>), 4.23 (dd, 1H,  $J = 8.0, 5.5$  Hz, H<sub>3</sub>), 4.50 (d, 1H,  $J = 8.0$  Hz, H<sub>1</sub>), 4.78-4.84 (AB, 2H,  $J_{AB} = 11.5$  Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 7.29-7.41 (m, 5H, H Ar). <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz)  $\delta$  25.7 (CH<sub>2</sub>Hg), 26.3 (CH<sub>3</sub>), 27.9 (CH<sub>3</sub>), 43.5 (C-6), 48.3 (C-OCH<sub>3</sub>), 56.9 (C-1-OCH<sub>3</sub>), 63.3 (C-7-CH<sub>2</sub>OH), 73.9 (CH<sub>2</sub>Ph), 76.5, 77.9 e 78.1 (C-2, C-3 e C-4), 99.6 (C-1), 100.2 (C-5), 110.2 (C), 127.3, 127.4, 127.5, 128.2 (CH Ar), 138.0 (C Ar). Anal. Calc. per C<sub>20</sub>H<sub>21</sub>ClHg<sub>7</sub>: C 38.90, H 4.73. Trovata.: C 38.88, H 4.72.

**Demercuriazione dei composti organomercurici 12a-d**

La miscela di **12a-d** (250 mg, 0.40 mmol) in THF anidro (5.0 ml) è stata aggiunta goccia a goccia e in bagno di ghiaccio, ad una sospensione di litio alluminio idruro (LiAlH<sub>4</sub>) (5 eq, 2.1, mmol, 74.45 mg) in THF anidro (5.0 ml). La reazione mantenuta a 0 °C, sotto atmosfera di azoto per 2h. E' stata controllata con TLC la scomparsa del prodotto di partenza e la comparsa dei composti finali **13a-d** (R<sub>f</sub> = 0.57, 0.56, 0.54, 0.53). In seguito è stato aggiunto Et<sub>2</sub>O (17 ml), H<sub>2</sub>O (0.25 ml), una soluzione di NaOH 15% (0.25 ml), e nuovamente H<sub>2</sub>O (0.76 ml). Il risultante precipitato flocculante è stato agitato per 30 minuti e poi filtrato su Celite con Et<sub>2</sub>O. Il filtrato è stato concentrato sotto vuoto. La purificazione del grezzo mediante flash cromatografia (Cy/AcOEt 25%) ha fornito la miscela diastereoisomerica **13a-d** (0.65 mmol, 250 mg), in rapporto 1.5: 1.3: 0.92:0.81,

con una resa del 79%. La miscela è stata in seguito separata nei singoli componenti mediante HPLC (n-esano/isopropanolo 9:1).

**Metil (5*S*,6*S*)-2-*O*-benzil-6-deossi-3,4-*O*-isopropiliden-6-*C*-metil-5-*C*-metossi- $\alpha$ -L-arabino-eptopi ranoside (13a)**

Sciropo; resa 28%;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz)  $\delta$  7.40-7.24 (m, 5H, H Ar), 4.84-4.78 (sistema AB, 2H,  $J_{AB} = 11.5$  Hz,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 4.46 (d, 1H,  $J = 8.0$  Hz,  $\text{H}_1$ ), 4.22 (dd, 1H,  $J = 8.0, 5.3$  Hz,  $\text{H}_3$ ), 4.05 (d, 1H,  $J = 5.3$  Hz,  $\text{H}_4$ ), 3.94 (dd, 1H,  $J = 11.1, 7.0$  Hz,  $\text{H}_{7b}$ ), 3.60 (m, 1H,  $\text{H}_{7a}$ ), 3.58 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 3.37 (t, 1H,  $J = 8.0$  Hz,  $\text{H}_2$ ), 3.32 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 2.45 (dd, 1H,  $J = 13.0, 7.0$  Hz  $\text{H}_6$ ), 2.38 (bs, 1H, OH), 1.33 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.32 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.07 (d, 1H,  $J = 7.0$  Hz  $\text{CH}_3$ ).  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 125 MHz)  $\delta$  138.3 (C Ar), 128.2, 128.1, 127.5, (CH Ar), 109.6 (C) 101.4 (C-5), 99.1 (C-1), 78.4, 78.1 e 76.3 (C-4, C-3 e C-2), 73.7 ( $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 64.3 ( $\text{CH}_2\text{OH}$ ), 56.9 ( $\text{OCH}_3$ ), 48.5 ( $\text{OCH}_3$ ) 39.5 (C-7), 27.8 ( $\text{CH}_3$ ), 26.3 ( $\text{CH}_3$ ), 11.6 ( $\text{CH}_3$ ). Anal. Calc. per  $\text{C}_{20}\text{H}_{30}\text{O}_7$ : C 62.81, H 7.91 Trovata C 62.75, H 7.96. PM: 382.20.

**Metil (5*R*,6*S*)-2-*O*-benzil-6-deossi-3,4-*O*-isopropiliden-6-*C*-metil-5-*C*-metossi- $\alpha$ -L-arabino-eptopi ranoside (13b)**

Sciropo; resa 22%;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz)  $\delta$  7.40-7.25 (m, 5H, H Ar), 4.83-4.77 (sistema AB, 2H,  $J_{AB} = 12.0$  Hz,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 4.47 (d, 1H,  $J = 8.0$  Hz,  $\text{H}_1$ ), 4.25 (dd, 1H,  $J = 7.5, 5.5$  Hz,  $\text{H}_3$ ), 4.03 (d, 1H,  $J = 5.5$  Hz,  $\text{H}_4$ ), 3.91 (dd, 1H,  $J = 11.0, 7.5$  Hz,  $\text{H}_{7b}$ ), 3.63 (dd, 1H,  $J = 11.0, 3.5$  Hz  $\text{H}_{7a}$ ), 3.56 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 3.37 (dd, 1H,  $J = 8.5, 7.5$  Hz,  $\text{H}_2$ ), 3.26 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 2.80 (bs, 1H, OH), 2.66 (dd, 1H,  $J = 7.0, 3.5$  Hz  $\text{H}_6$ ), 1.34 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.32 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.01 (d, 1H,  $J = 7.6$  Hz  $\text{CH}_3$ ).  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 125 MHz)  $\delta$  138.4 (C Ar), 128.3, 128.2, 127.6, (CH Ar), 109.5 (C) 101.5 (C-5), 99.3 (C-1), 78.6, 78.1 e 76.7 (C-4, C-3 e C-2), 73.6 ( $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 64.9 ( $\text{CH}_2\text{OH}$ ), 56.8 ( $\text{OCH}_3$ ), 48.2 ( $\text{OCH}_3$ ) 39.3 (C-7), 27.6 ( $\text{CH}_3$ ), 26.1 ( $\text{CH}_3$ ), 11.2 ( $\text{CH}_3$ ). Anal. Calc. per  $\text{C}_{20}\text{H}_{30}\text{O}_7$ : C 62.81, H 7.91 Trovata C 62.75, H 7.96. PM: 382.20.

**Metil (5*S*,6*R*)-2-*O*-benzil-6-deossi-3,4-*O*-isopropiliden-6-*C*-metil-5-*C*-metossi- $\alpha$ -L-arabino-eptopi ranoside (13c)**

Sciropo; resa 30%;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz)  $\delta$  7.38-7.24 (m, 5H, H Ar), 4.84-4.74 (sistema AB, 2H,  $J_{AB} = 12.0$  Hz,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 4.53 (d, 1H,  $J = 7.0$  Hz,  $\text{H}_1$ ), 4.32 (d, 1H,  $J = 8.5$  Hz,  $\text{H}_4$ ), 4.22 (dd, 1H,  $J = 8.5, 8.0$  Hz,  $\text{H}_3$ ), 4.08 (dd, 1H,  $J = 8.0, 7.0$  Hz,  $\text{H}_2$ ), 3.74

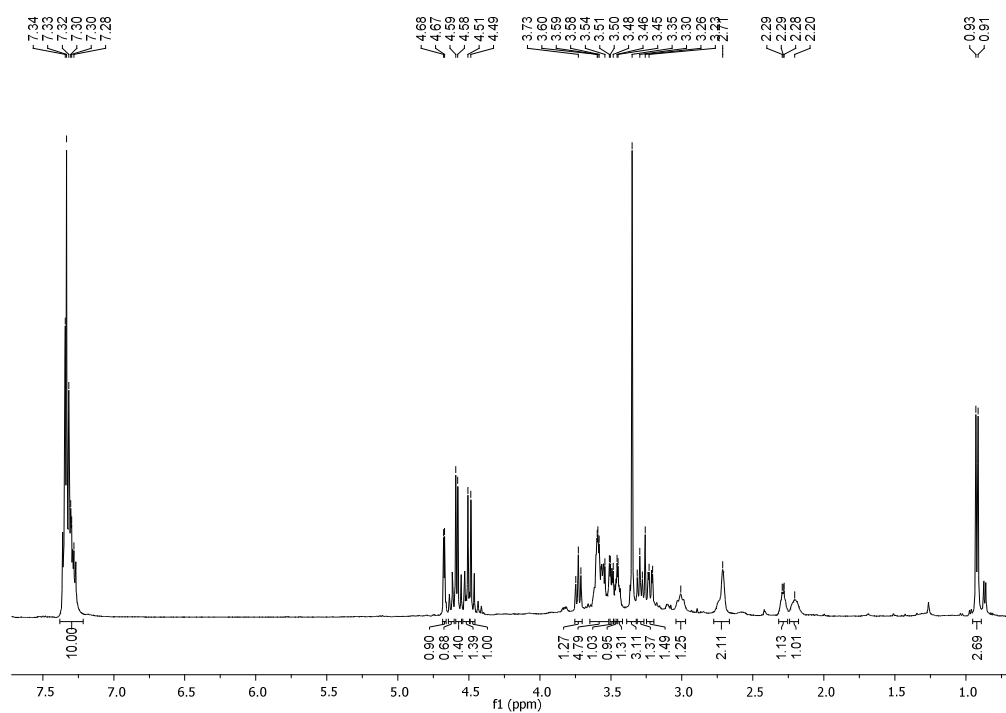
(dd, 1H,  $J = 11.5, 8.5$  Hz  $H_{7b}$ ), 3.55 (dd, 1H,  $J = 11.5, 3.5$  Hz,  $H_{7a}$ ), 3.47 (s, 3H,  $OCH_3$ ), 3.31 (s, 3H,  $OCH_3$ ), 2.90 (bs, 1H, OH), 2.36 (ddd, 1H,  $J = 11.5, 7.5, 4.5$  Hz  $H_6$ ), 1.46 (s, 3H,  $CH_3$ ), 1.33 (s, 3H,  $CH_3$ ), 0.96 (d, 1H,  $J = 7.5$  Hz  $CH_3$ ).  $^{13}C$  NMR ( $CDCl_3$ , 125 MHz)  $\delta$  139.1 (C Ar), 128.5, 128.2, 127.3, (CH Ar), 109.2 (C) 101.1 (C-5), 99.5 (C-1), 78.6, 78.3 e 76.3 (C-4, C-3 e C-2), 73.0 ( $CH_2Ph$ ), 64.8 ( $CH_2OH$ ), 56.3 ( $OCH_3$ ), 48.2 ( $OCH_3$ ) 39.3 (C-7), 29.0 ( $CH_3$ ), 27.5 ( $CH_3$ ), 11.0 ( $CH_3$ ). Anal. Calc. per  $C_{20}H_{30}O_7$ : C 62.81, H 7.91 Trovata. C 62.75, H 7.96. PM: 382.20.

**Metil (5*R*6*R*)-2-*O*-benzil-6-deossi-3,4-*O*-isopropiliden-6-*C*-metil-5-*C*-metossi- $\alpha$ -L-arabino-eptopiranoside (13d)**

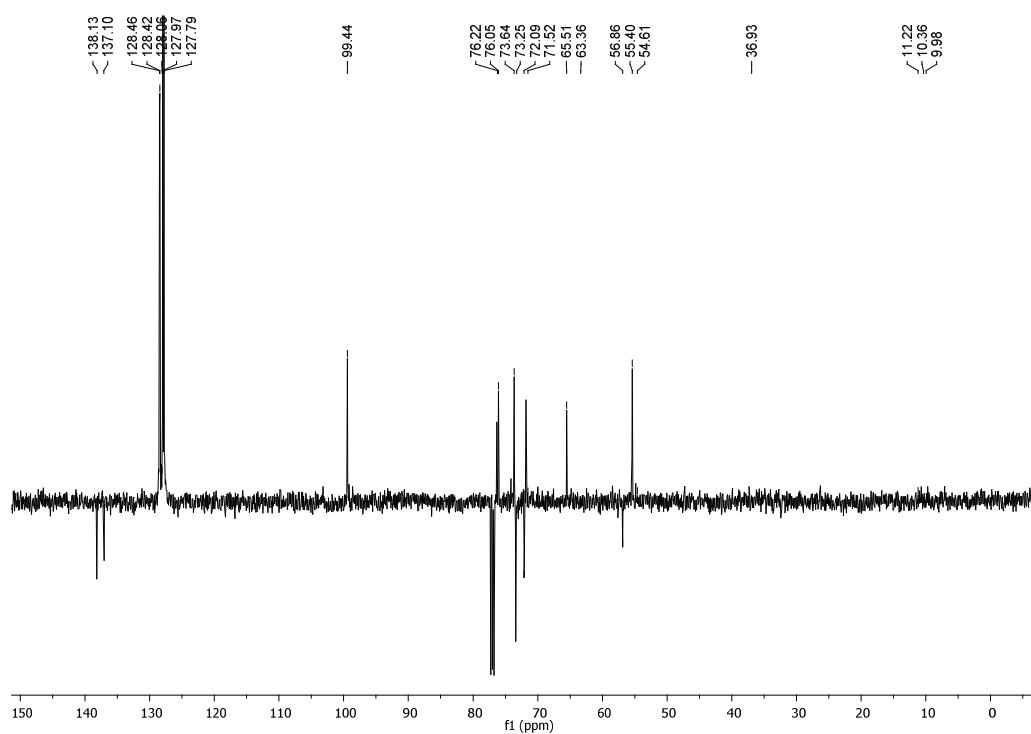
Sciropo; resa 20%;  $^1H$  NMR ( $CDCl_3$ , 500 MHz)  $\delta$  7.39-7.25 (m, 5H, H Ar), 4.83-4.75 (sistema AB, 2H,  $J_{AB} = 12.0$  Hz,  $CH_2Ph$ ), 4.50 (d, 1H,  $J = 7.5$  Hz,  $H_1$ ), 4.26 (dd, 1H,  $J = 8.5, 8.0$  Hz,  $H_3$ ), 4.25 (d, 1H,  $J = 8.0$  Hz,  $H_4$ ), 4.01 (dd, 1H,  $J = 8.5, 7.5$  Hz,  $H_2$ ), 3.70 (m, 1H,  $H_{7b}$ ), 3.55 (m, 1H,  $H_{7a}$ ), 3.48 (s, 3H,  $OCH_3$ ), 3.27 (s, 3H,  $OCH_3$ ), 3.15 (bs, 1H, OH), 2.31 (ddd, 1H,  $J = 10.5, 7.0, 3.5$  Hz  $H_6$ ), 1.49 (s, 3H,  $CH_3$ ), 1.35 (s, 3H,  $CH_3$ ), 1.01 (d, 1H,  $J = 7.0$  Hz  $CH_3$ ).  $^{13}C$  NMR ( $CDCl_3$ , 125 MHz)  $\delta$  139.0 (C Ar), 127.3, 127.1 e 126.9 (CH Ar), 109.9 (C) 101.1 (C-5), 99.7 (C-1), 79.0, 77.1 e 76.2 (C-4, C-3 e C-2), 72.4 ( $CH_2Ph$ ), 63.8 ( $CH_2OH$ ), 55.7 ( $OCH_3$ ), 49.5 ( $OCH_3$ ) 40.6 (C-7), 27.9 ( $CH_3$ ), 26.9 ( $CH_3$ ), 12.7 ( $CH_3$ ). Anal. Calc. per  $C_{20}H_{30}O_7$ : C 62.81, H 7.91 Trovata.: C 62.75, H 7.96. PM: 382.20.

## 5.2 Spettri NMR

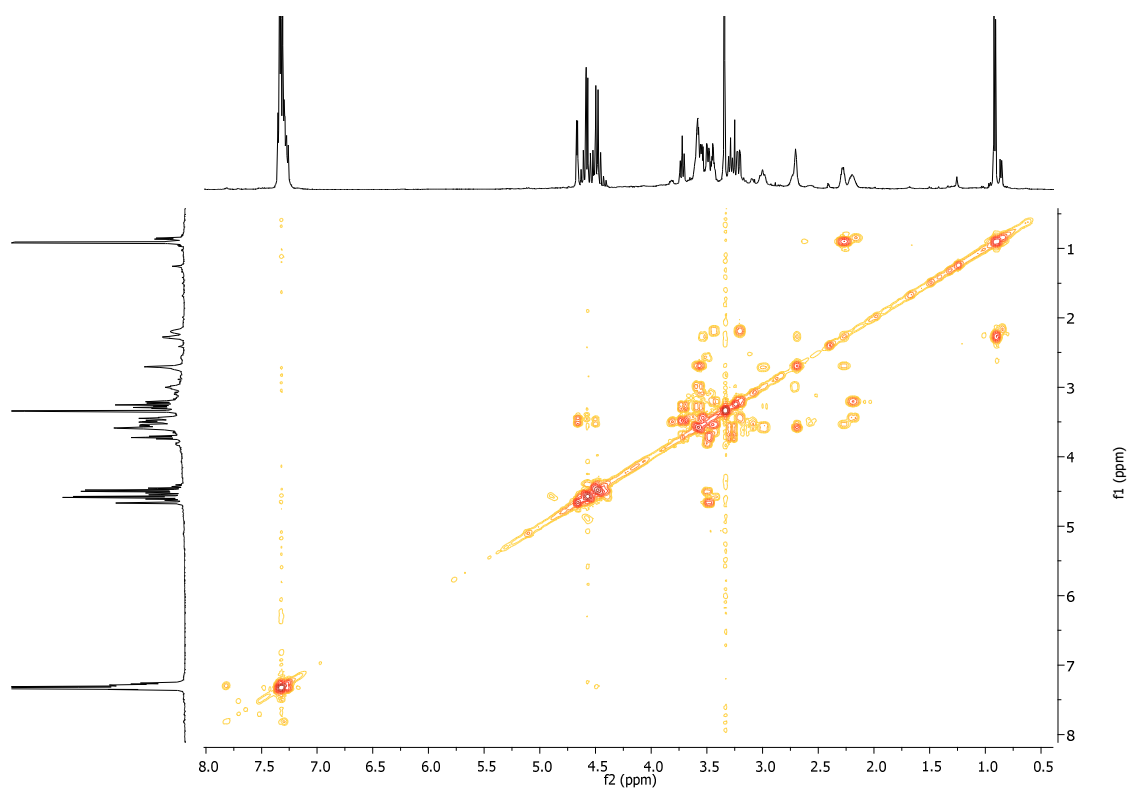
Spettro  $^1\text{H}$  NMR del composto **7a**



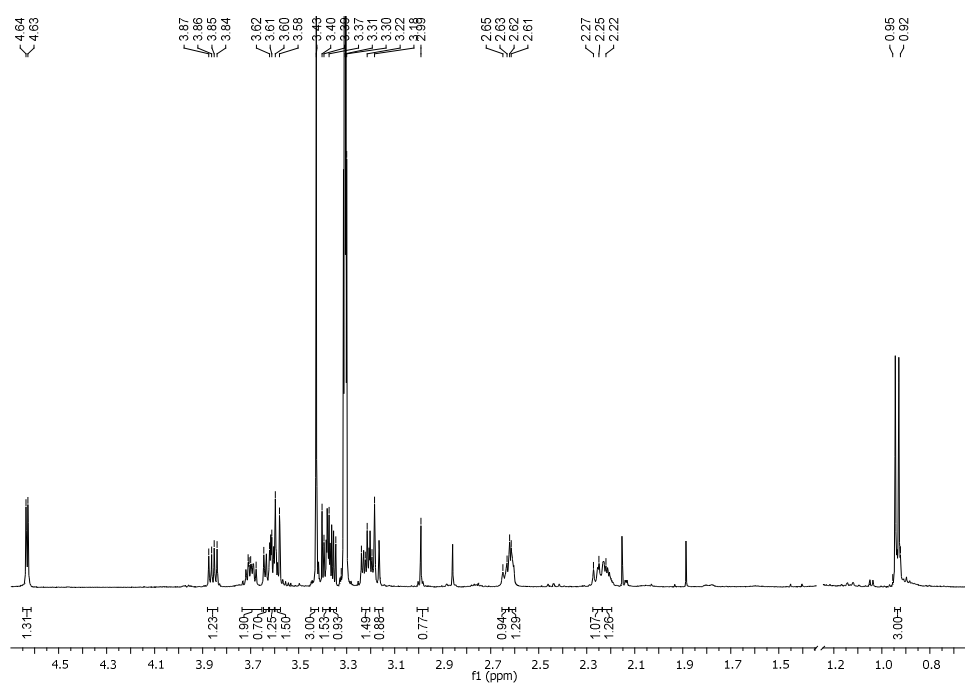
Spettro  $^{13}\text{C}$  NMR del composto **7a**



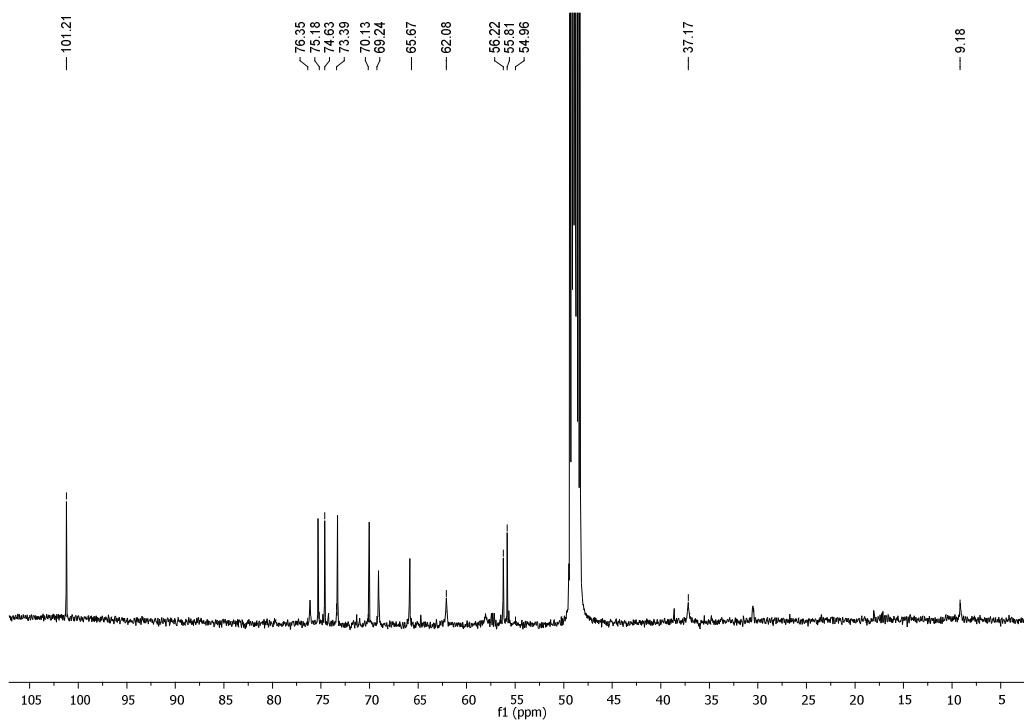
Spettro COSY del composto **7a**



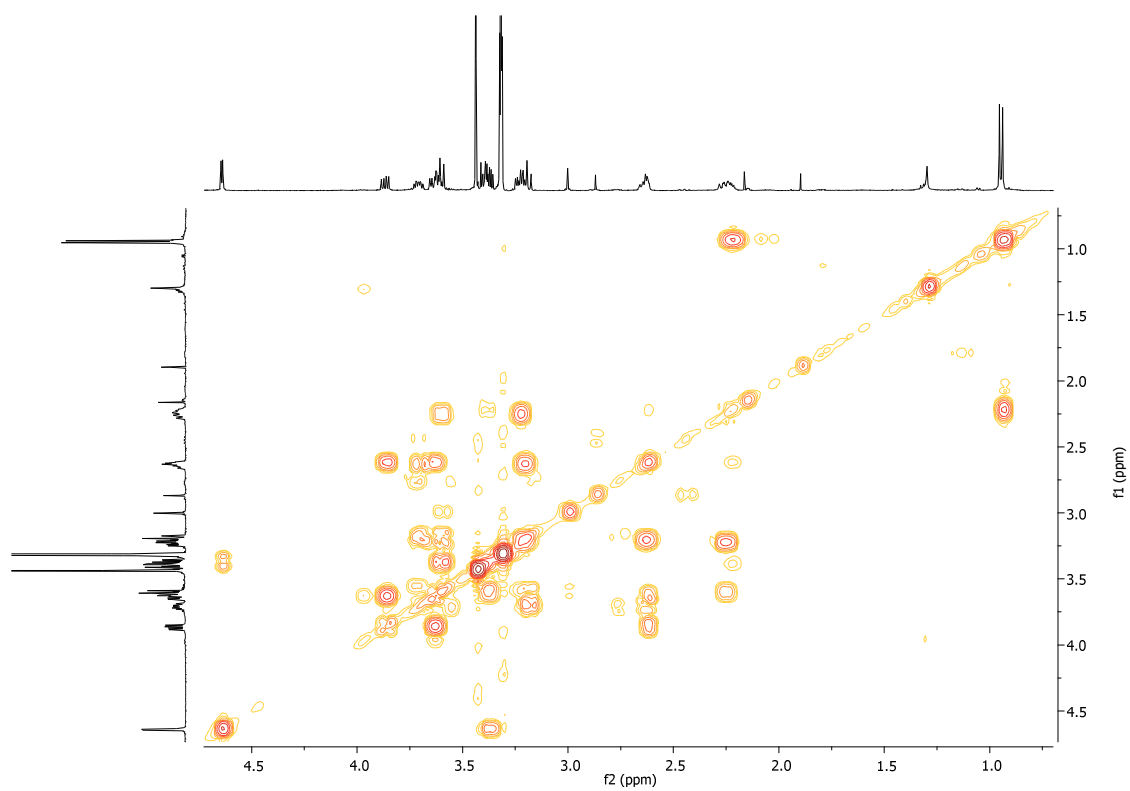
Spettro  $^1\text{H}$  NMR del composto **8a**



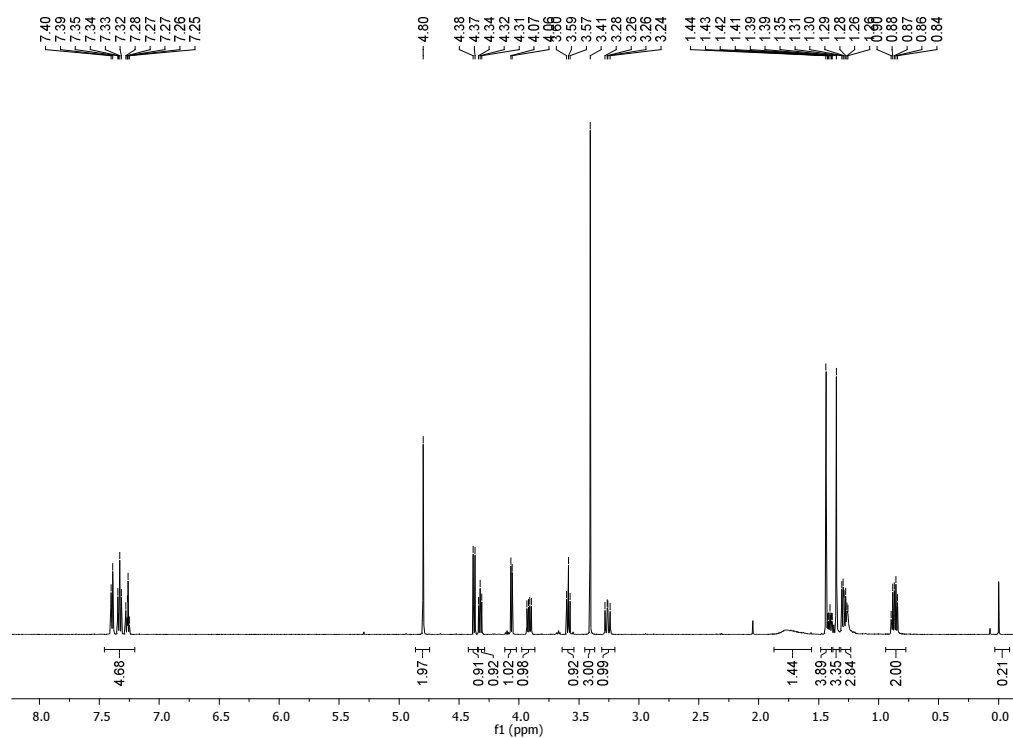
# Spettro $^{13}\text{C}$ NMR del composto **8a**



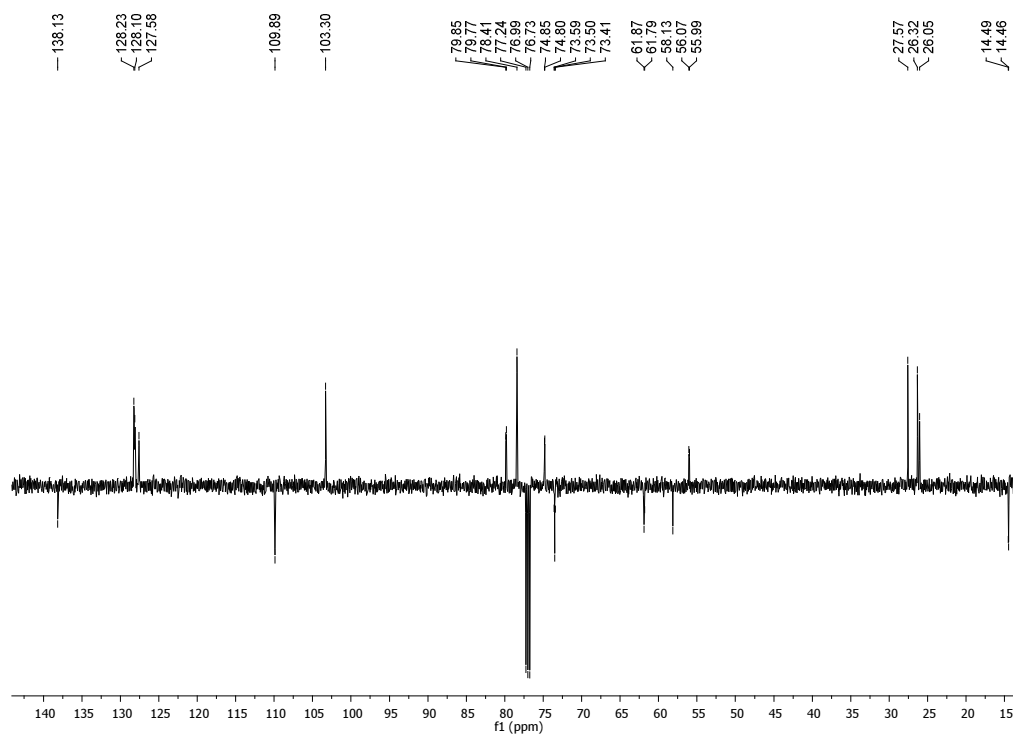
## Spettro COSY composto **8a**



# Spettro $^1\text{H}$ NMR del composto **11a**

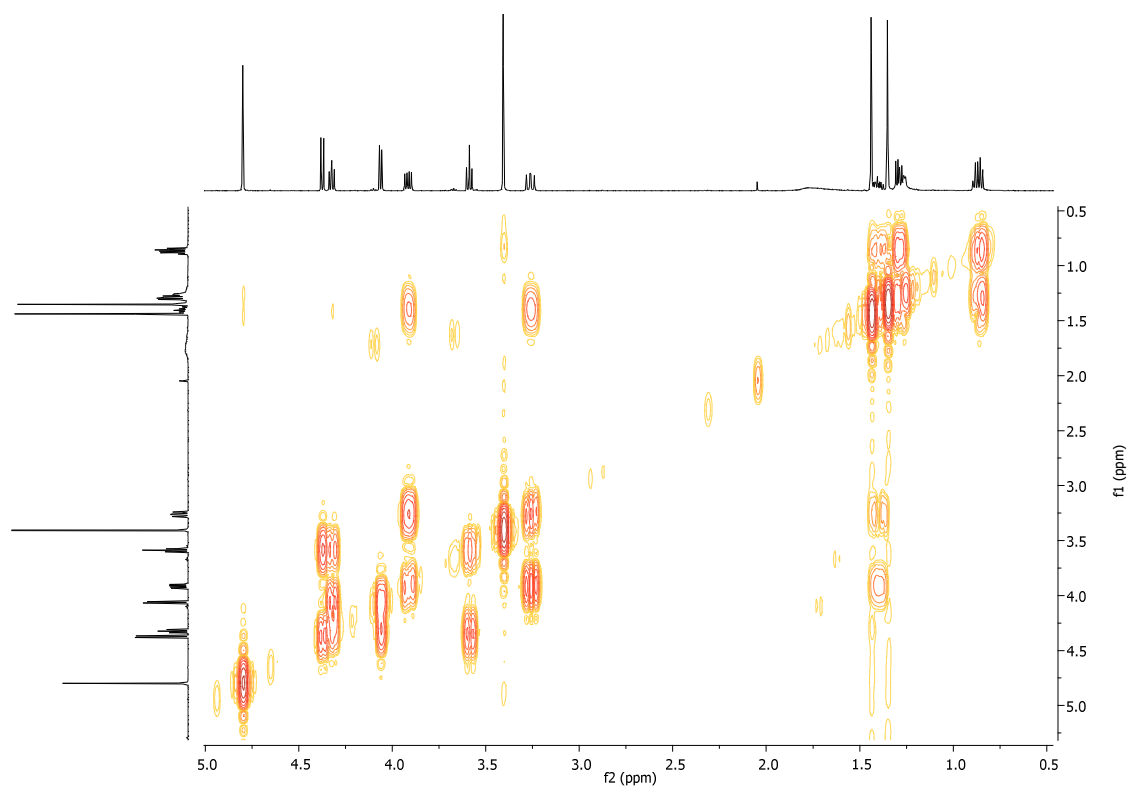


# Spettro $^{13}\text{C}$ NMR del composto **11a**

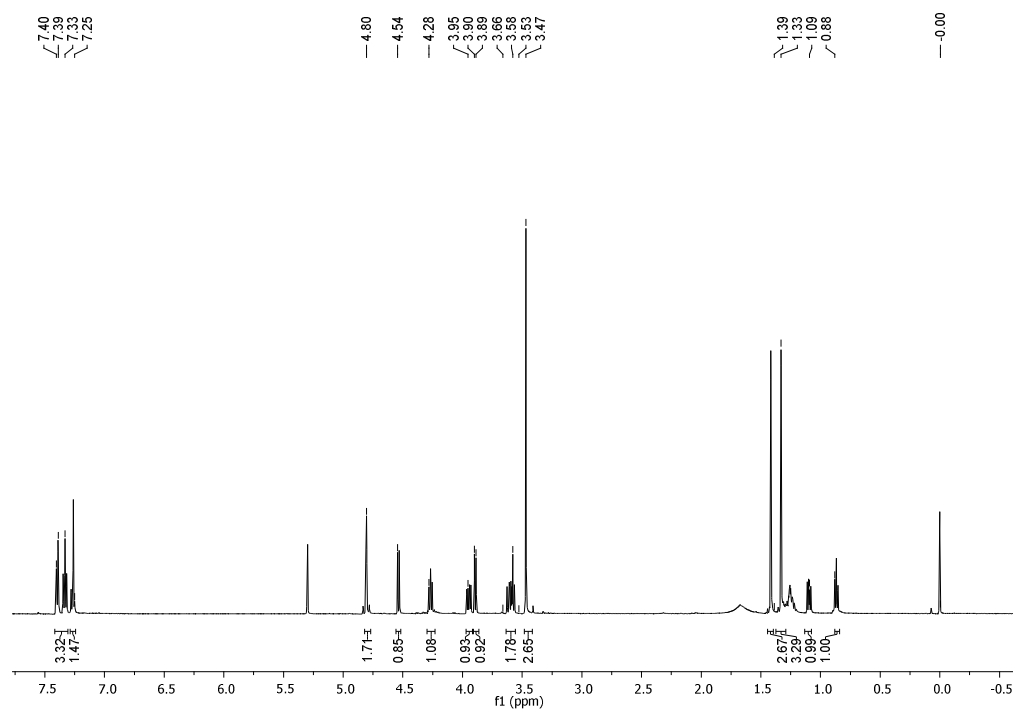




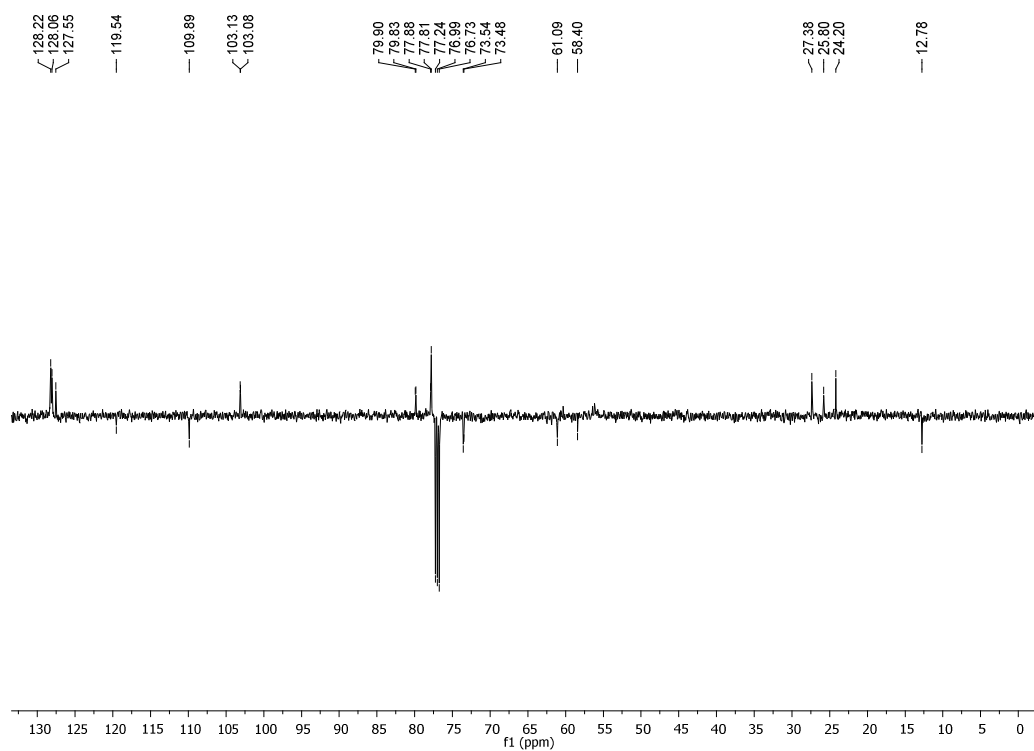
Spettro COSY composto **11a**



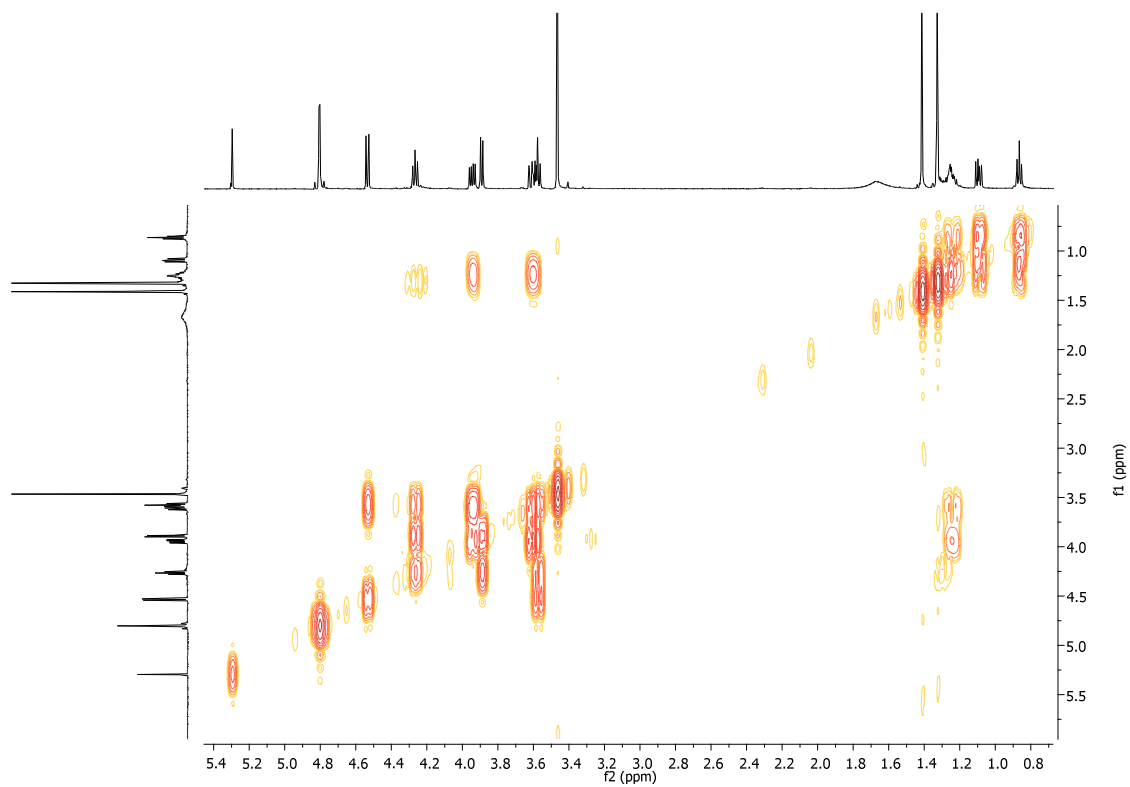
Spettro  $^1\text{H}$  NMR del composto **11b**



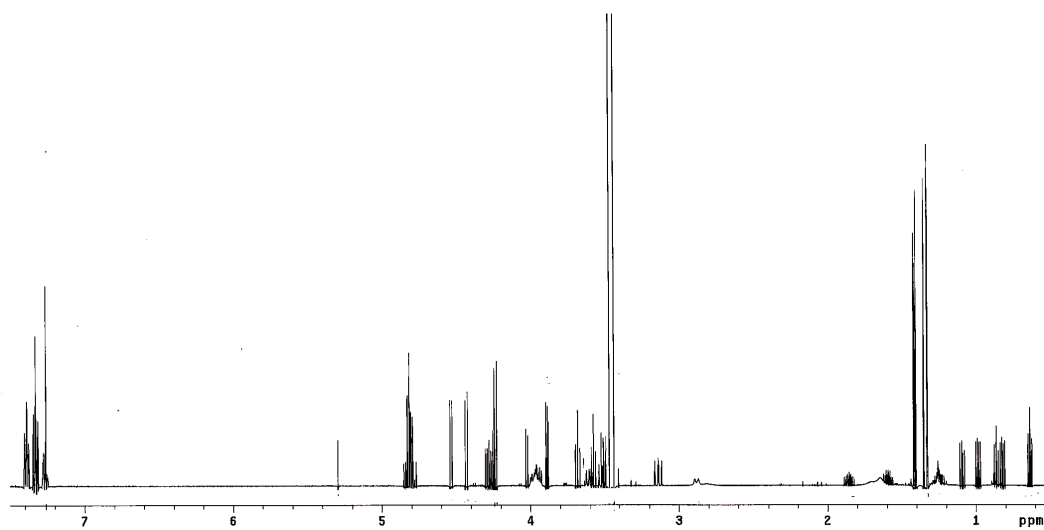
# Spettro $^{13}\text{C}$ NMR del composto **11b**



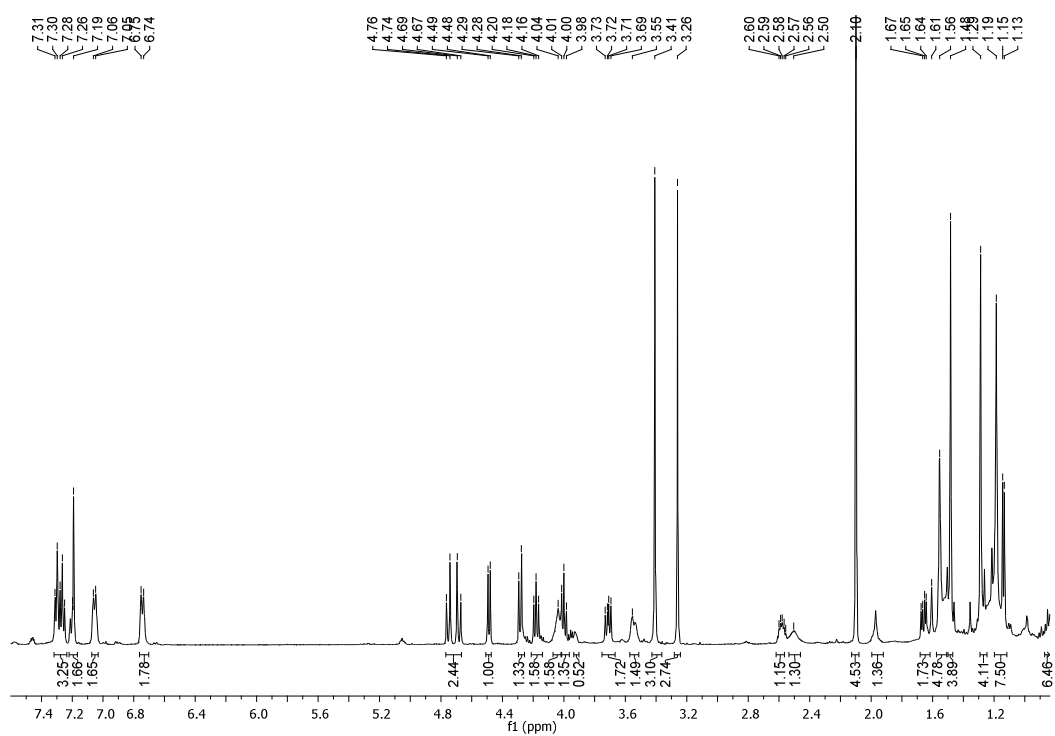
# Spettro COSY del composto **11b**



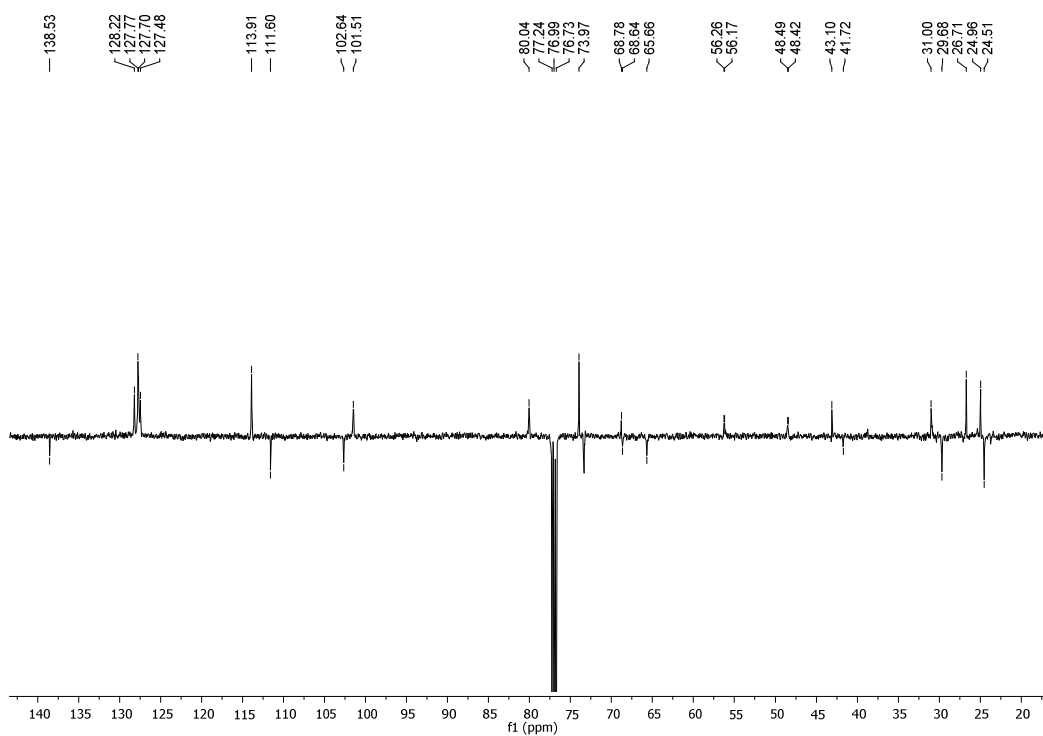
Spettro  $^1\text{H}$  NMR della miscela **11c-11d**



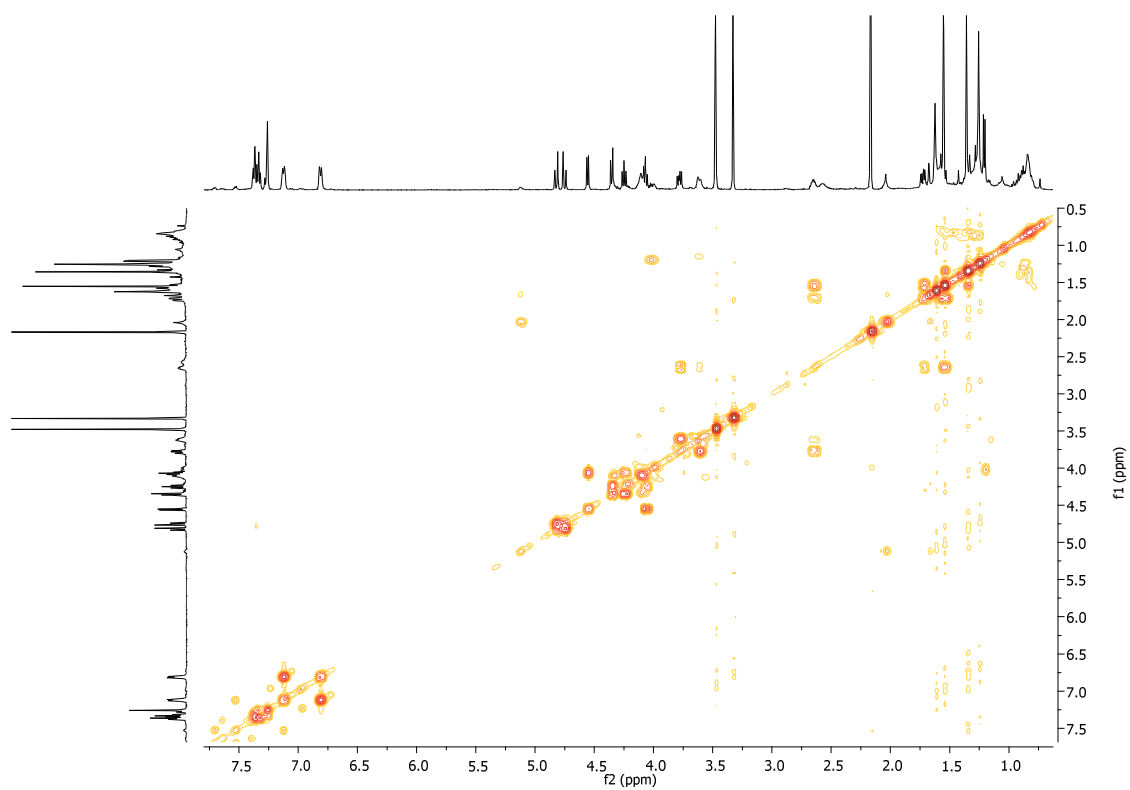
Spettro  $^1\text{H}$  NMR del composto **12a**



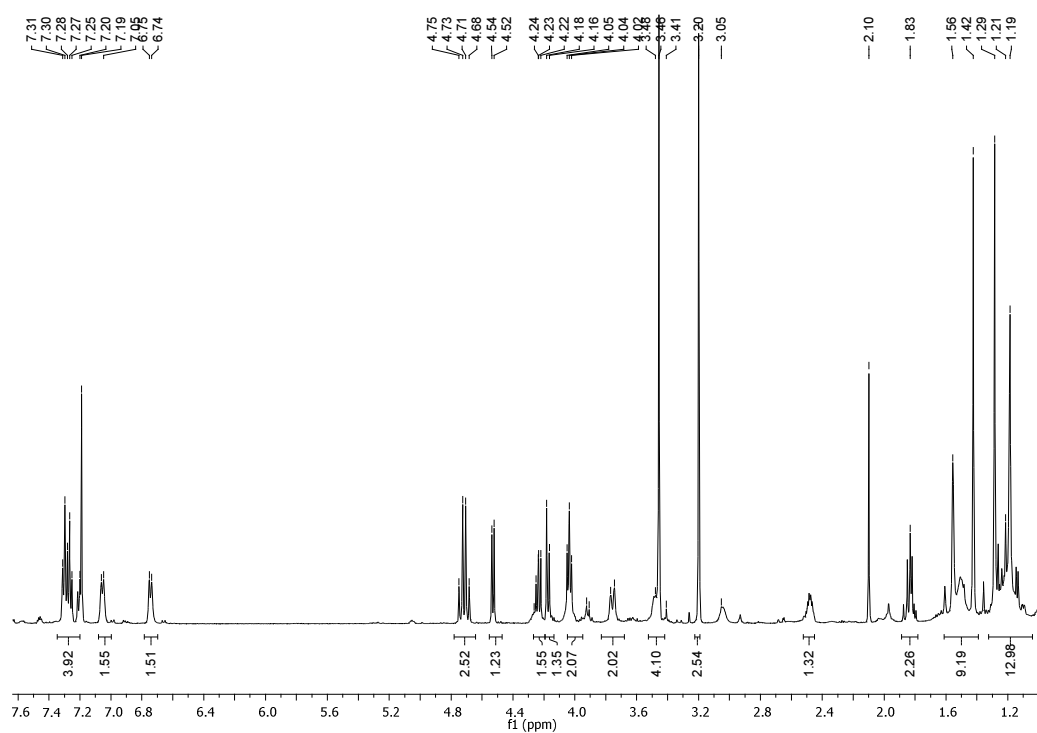
# Spettro $^{13}\text{C}$ NMR del composto **12a**



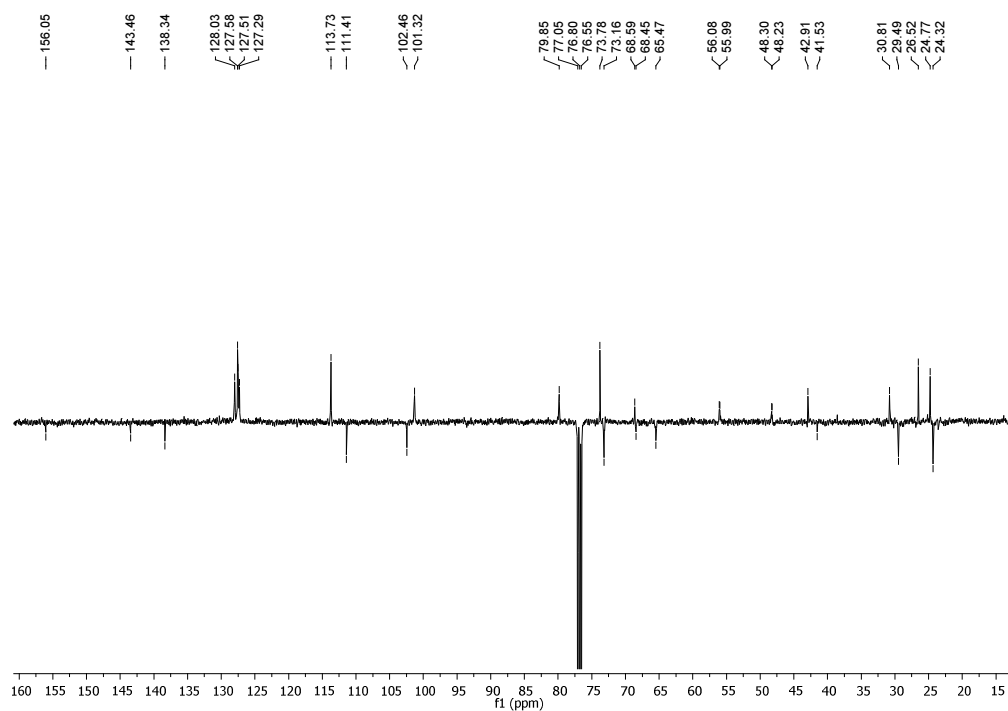
# Spettro COSY del composto **12a**



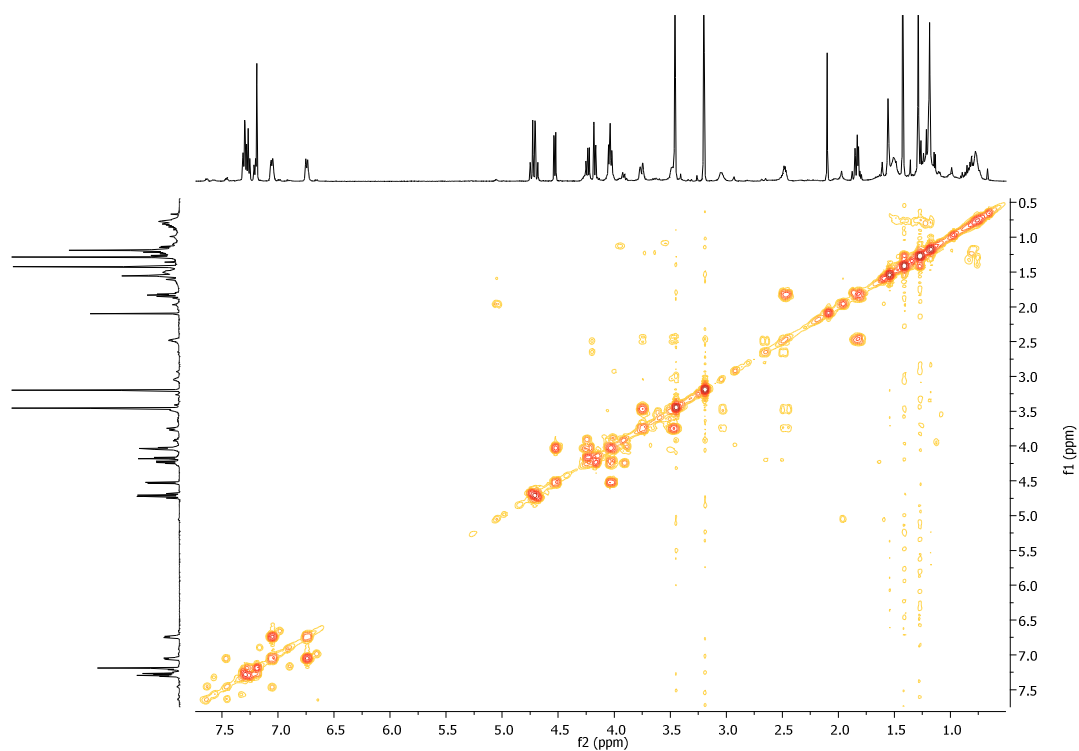
# Spettro $^1\text{H}$ NMR del composto **12b**



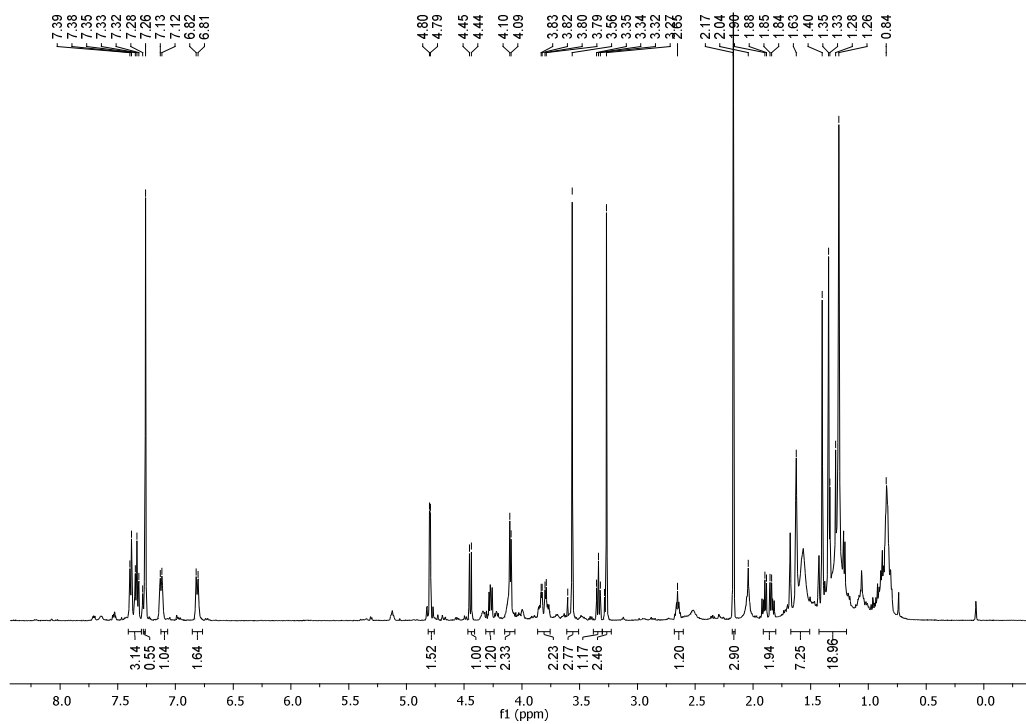
# Spettro $^{13}\text{C}$ NMR del composto **12b**



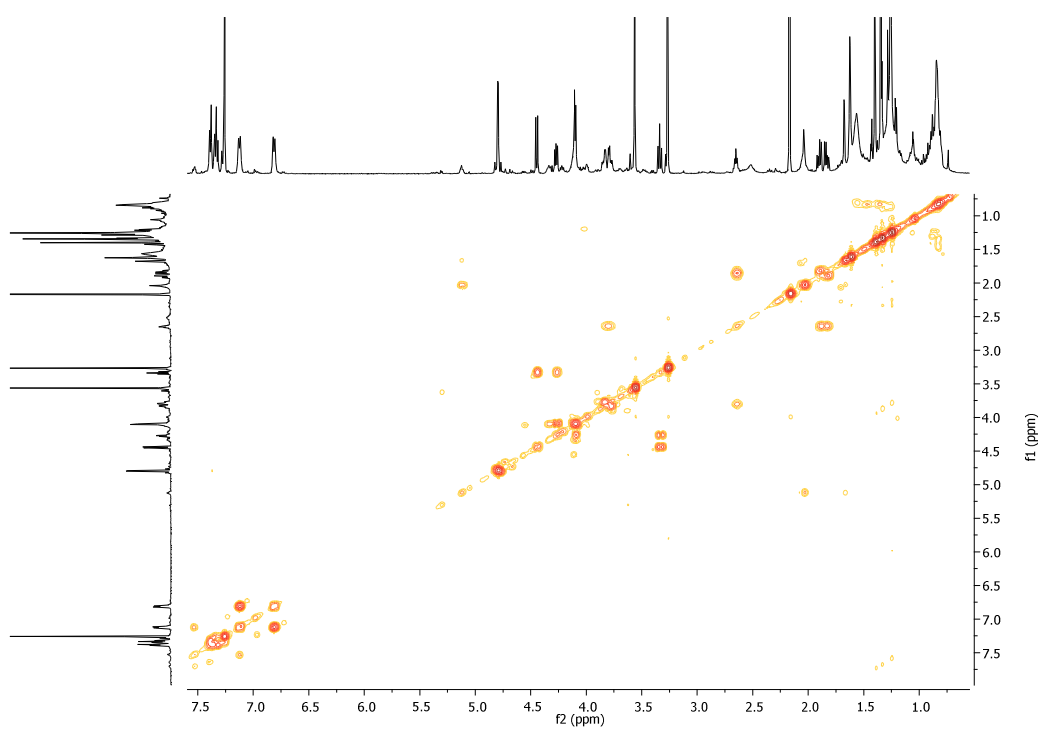
Spettro COSY del composto **12b**



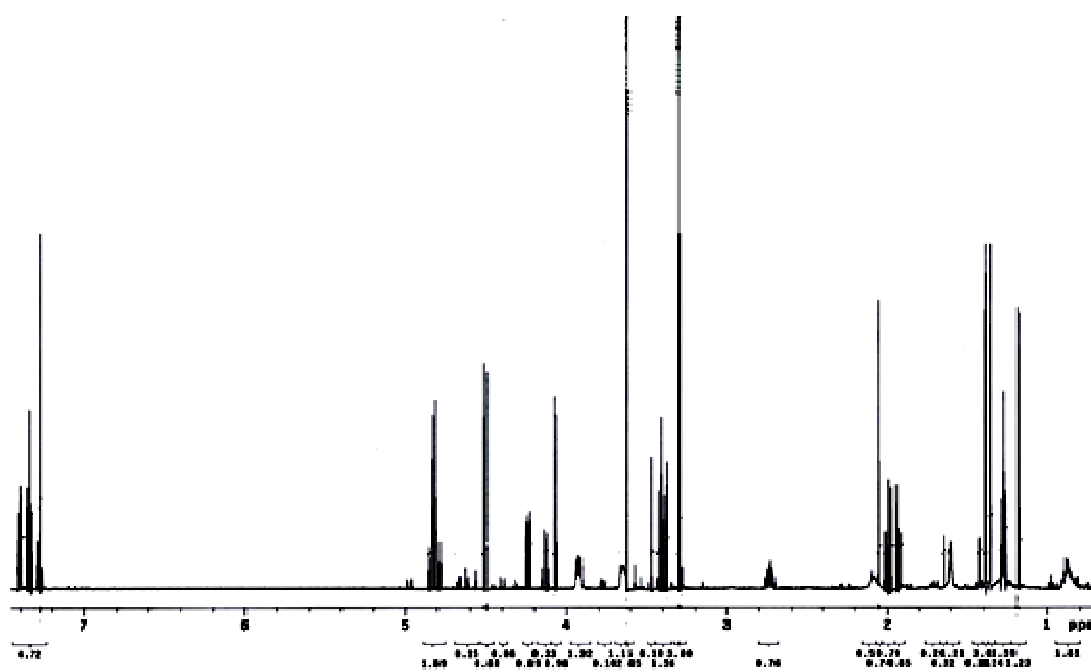
Spettro <sup>1</sup>H NMR del composto **12c**



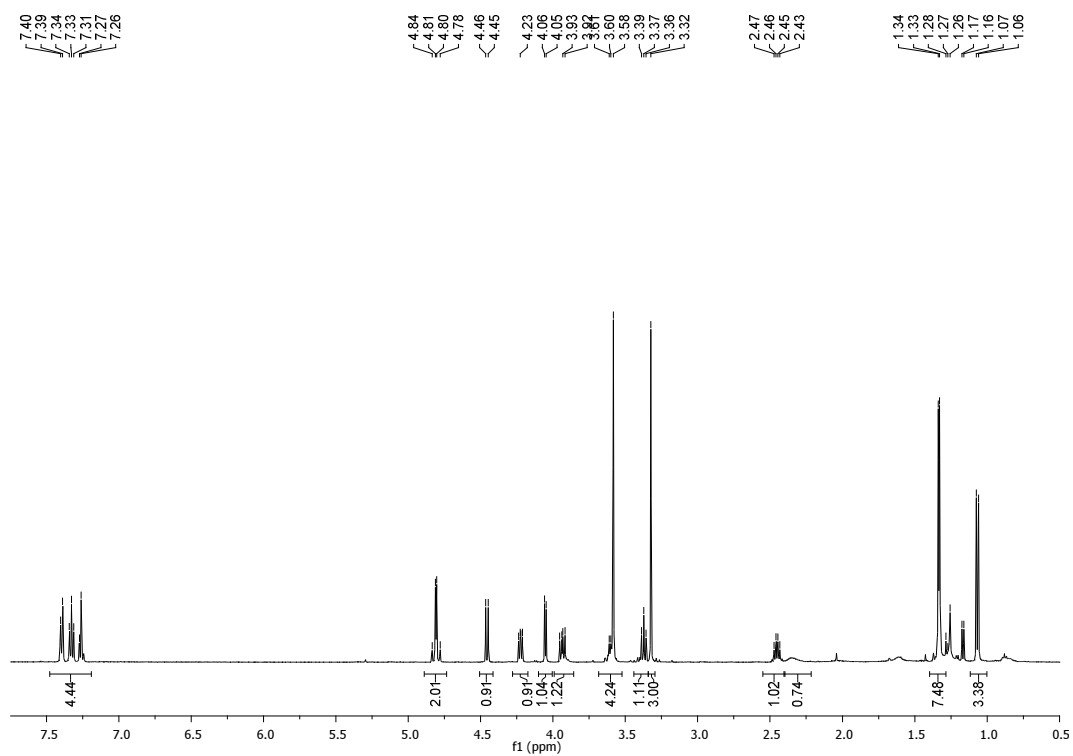
Spettro COSY del composto **12c**



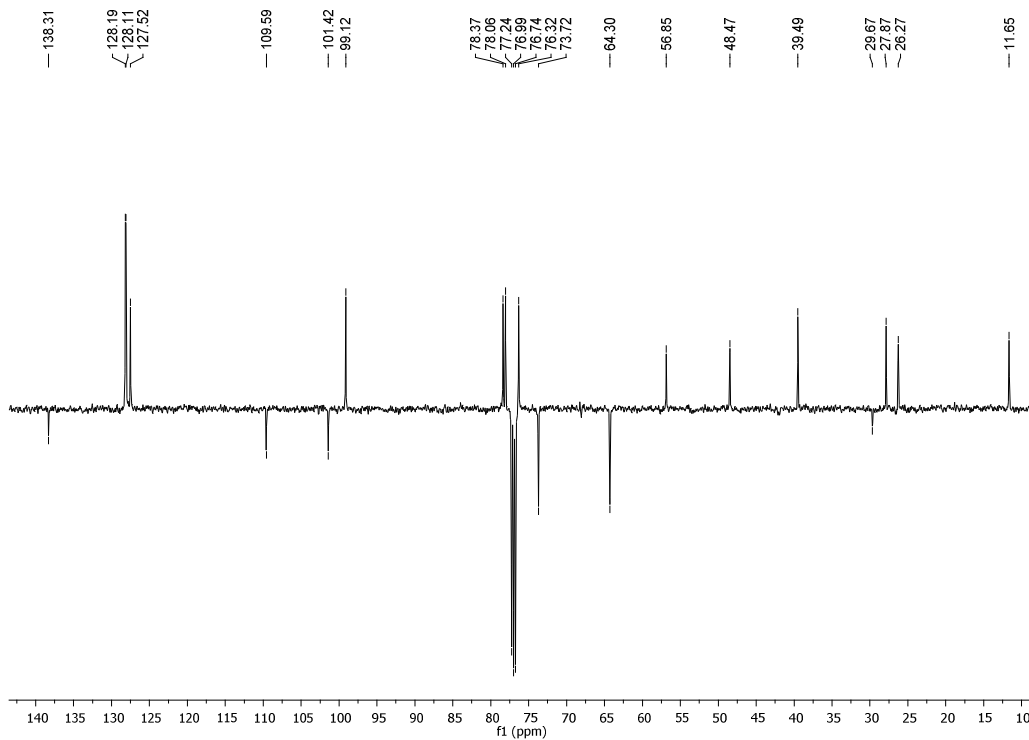
Spettro  $^1\text{H}$  NMR del composto **12d**



# Spettro $^1\text{H}$ NMR del composto **13a**

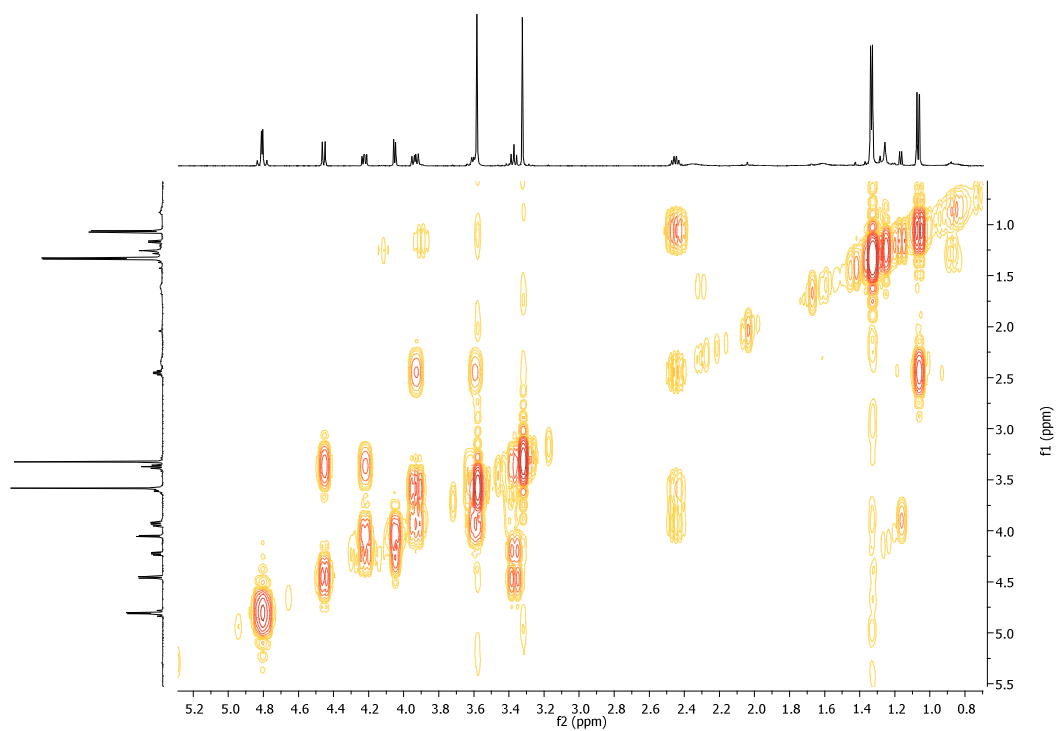


# Spettro $^{13}\text{C}$ del composto **13a**

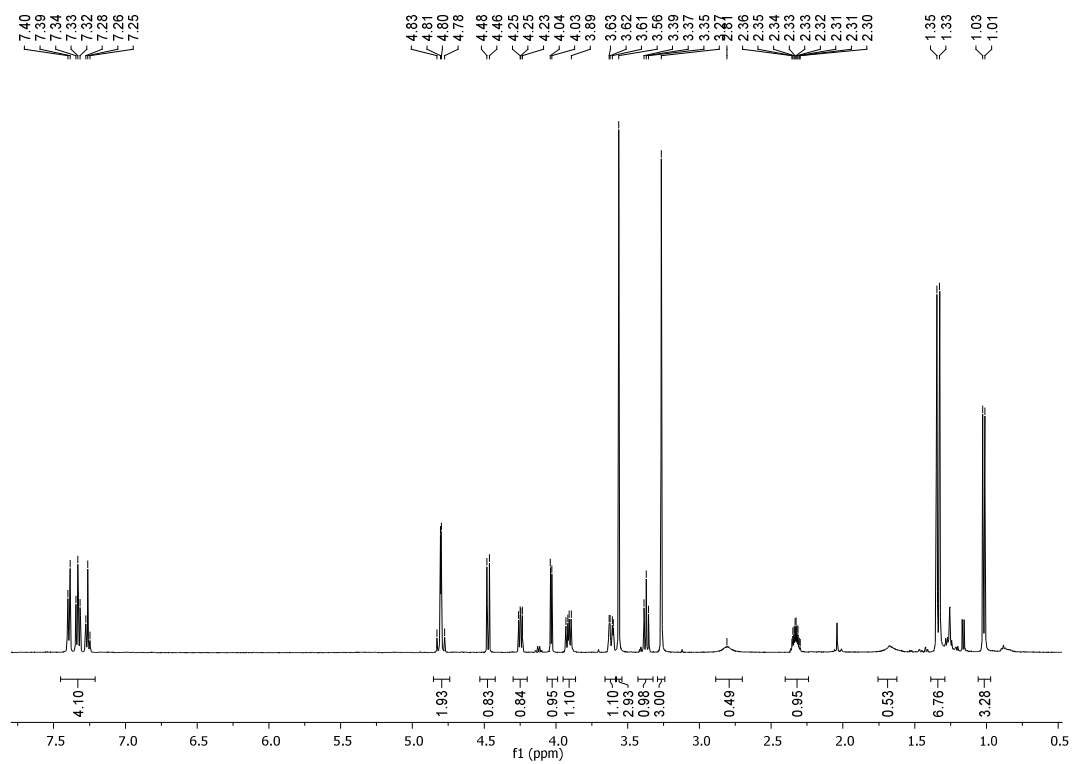




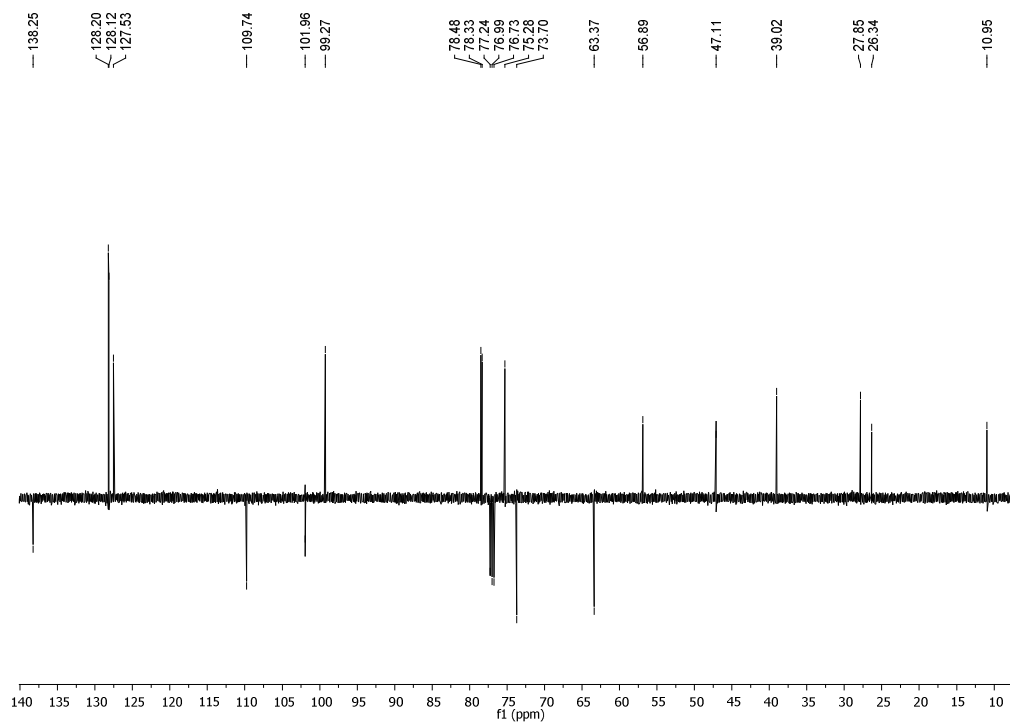
Spettro COSY del composto **13a**



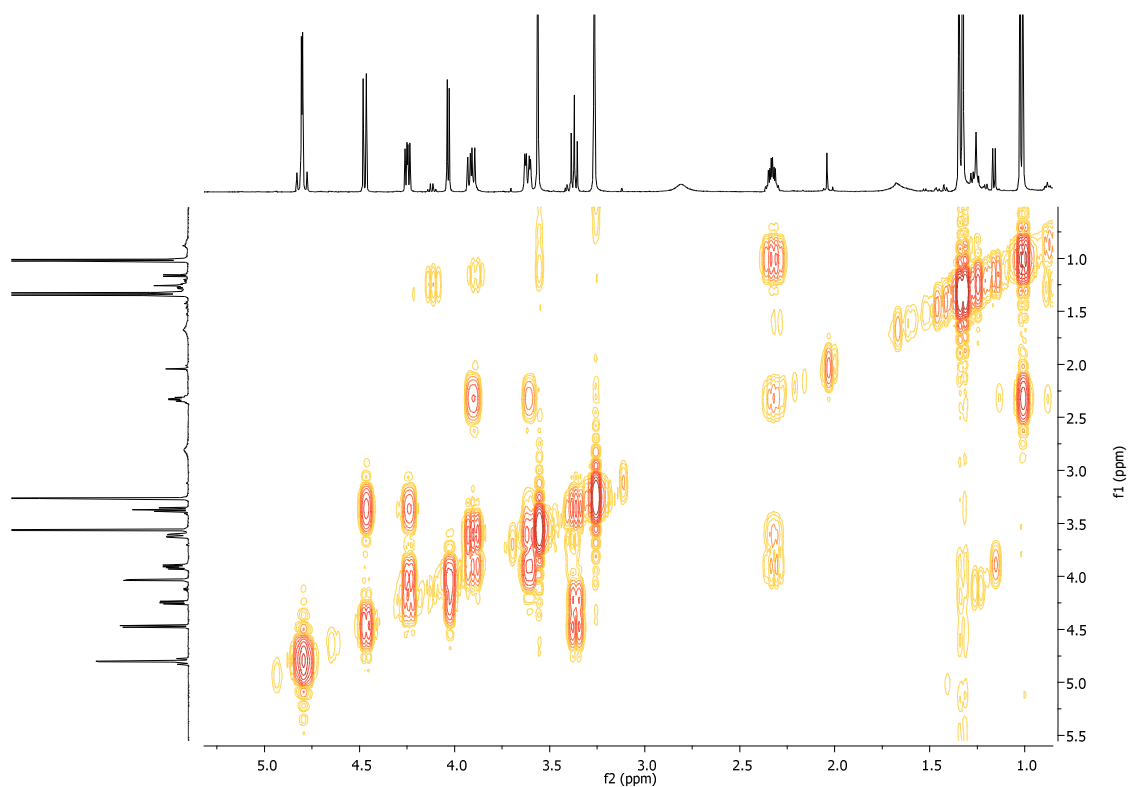
Spettro  $^1\text{H}$  NMR del composto **13b**



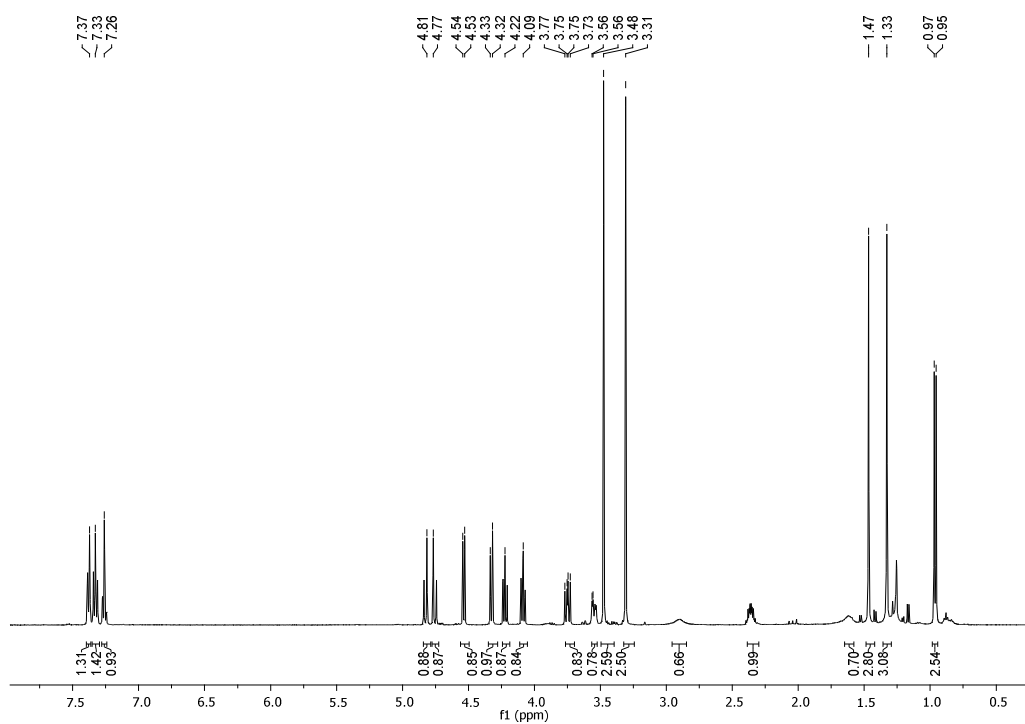
# Spettro $^{13}\text{C}$ NMR del composto **13b**



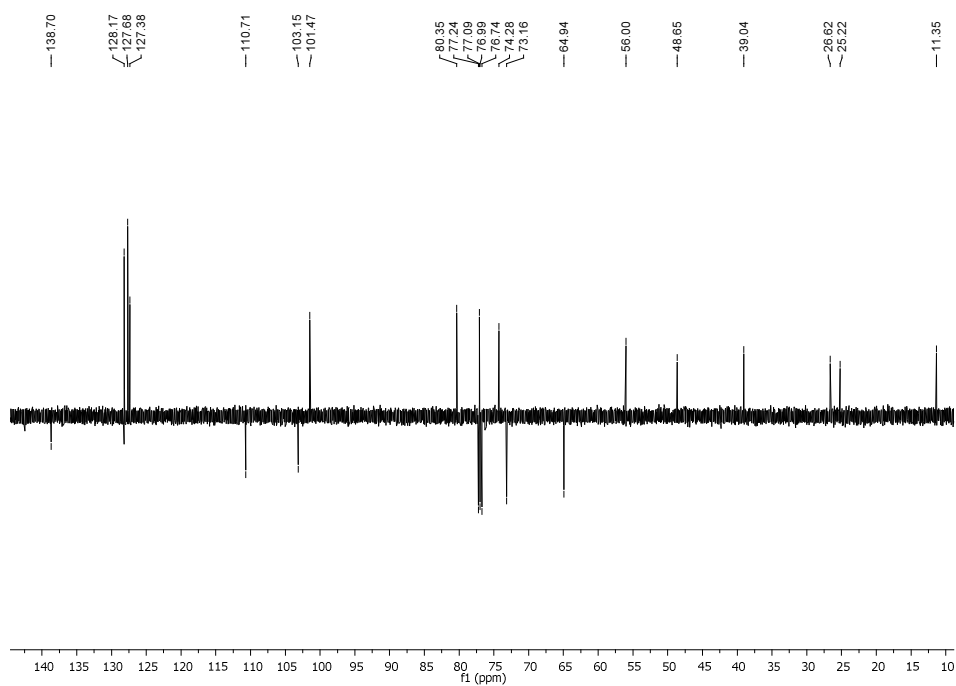
# Spettro COSY del composto **13b**



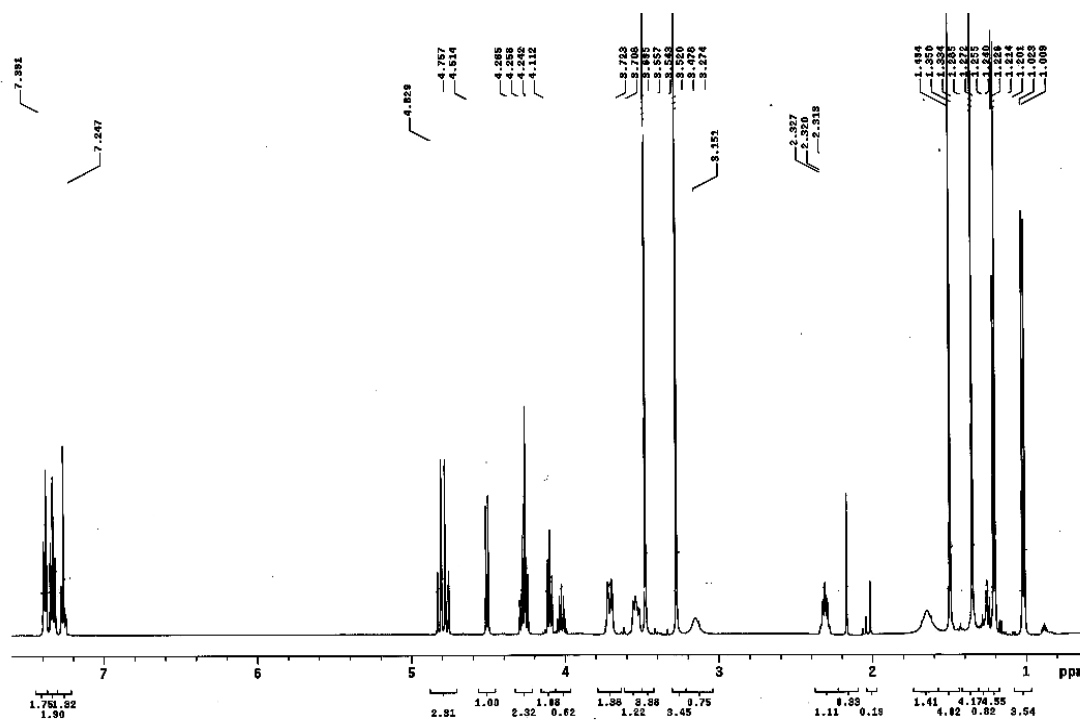
# Spettro $^1\text{H}$ NMR del composto **13c**



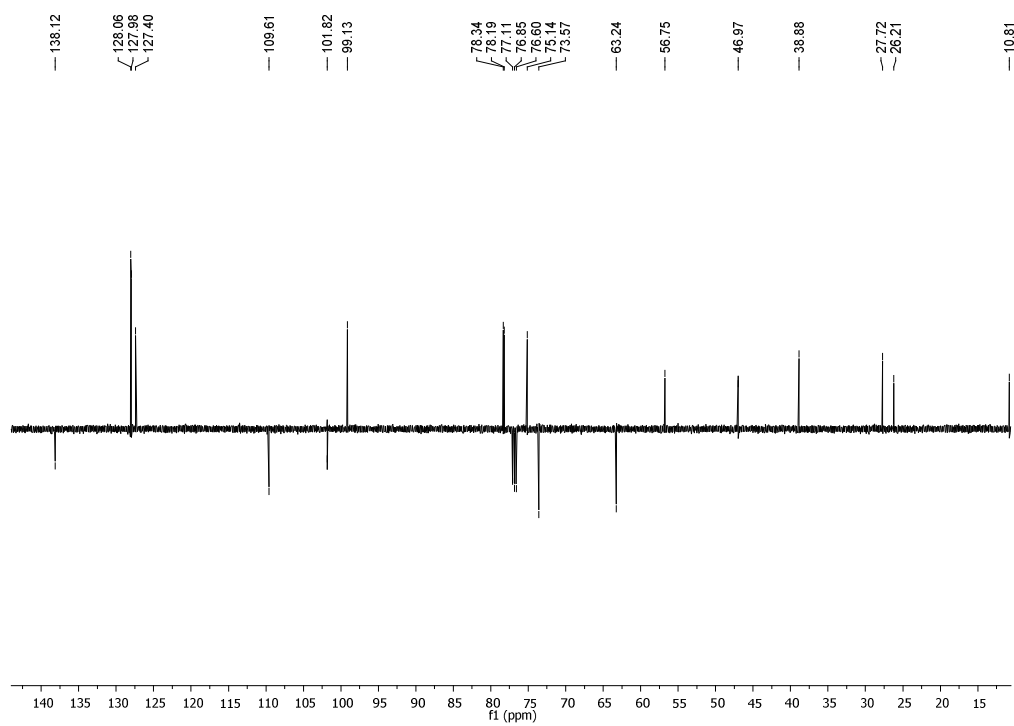
# Spettro $^{13}\text{C}$ NMR del composto **13c**



# Spettro $^1\text{H}$ NMR del composto **13d**



# Spettro $^{13}\text{C}$ NMR del composto **13d**



## 6. Bibliografia

1. Secondo le indicazioni IUPAC, 2-Carb-17.2, il termine glicale non è preferito come nome scientifico per gli enol eteri ciclici derivati da zuccheri con un doppio legame tra gli atomi di carbonio 1 e 2 dell'anello. Non dovrebbe essere usato, o modificato, come un nome per classe di derivati monosaccaridici che hanno un doppio legame in qualsiasi altra posizione. (*Pure Appl. Chem.* **1996**, 68, 1919). Il cosiddetto eso-glicale è chiamato normalmente usando una terminologia basata su "anidro-enitol". Il termine "C-glicosilidene" indica chiaramente la duplice sostituzione al centro anomero e dovrebbe anche essere usato per questi carboidrati insaturi.
2. Fraser-Reid B.; Carthy B. J. *Can J. Chem.* **1972**, 50, 2928.
3. (a) Corsaro A.; Chiacchio U.; Adamo R.; Pistarà V.; Rescifina A.; Romeo R.; Catelani G.; D'andrea F.; Marini, M.; Attolito E. *Tetrahedron* **2004**, 60, 3787–3795; b) Corsaro A., Pistarà V., Catelani G., D'andrea F., Adamo R., Chiacchio M. A. *Tetrahedron Lett.* **2006**, 47, 6591. c) Fraser-Reid B.; Carthy B. J. *Can J. Chem.* **1972**, 50, 2928.
4. Simmons H. E.; Smith R. D. *J. Am. Chem. Soc.* **1958**, 80, 5323; b) Hoberg J. O.; Cousins S. G. *Chem. Soc. Rev.*, **2000**, 29, 165.
5. (a) Hoveyda A. H.; Evans D. A.; Fu G. C. *Chem. Rev.* **1993**, 93, 1307; b) Molander G.; Aharring L. S. *J. Org. Chem.* **1989**, 54, 3525; c) Poulter C. D.; Friedrich E. C.; Winstein, S. J. *Am. Chem. Soc.* **1969**, 91, 6892; d) March J. *Adv. Org. Chem.*, John Wiley & Sons: New York, 4th Edn., **1992**.
6. Lakhri M.; Chapleur Y. *J. Org. Chem.* **1994**, 59, 5752.
7. Corsaro, A.; Chiacchio, M. A.; Pistarà, V.; Vittorino, E.; *Tetrahedron* **2008**, 64, 8652.
8. E. A. Baidzhigitova, V. A. Afanasev I. E. Dolgii, *Izv. Akad Nauk. Kirg. SSR*, **1981**, 50.
9. Hoberg, J. O.; Claffey, D.J. *Tetrahedron Lett*, **1996**, 37, 2533.
10. Timmers, C. M.; Leeuwenburgh. M. A.; Verheijen, J. C.; Van der Marel, O. A.; Van Boom, J. M. *Tetrahedron: Asymmetry*, **1996**, 7, 49.
11. (a) Dubreuil, D.; Cleophax, J.; De Almeida, M.V.; Liaigre, C.V.S.J.; Gero, G.V. And S.D., *Tetrahedron* **1997**, 49, 16747; b) Dalko, P.I.; Sinaÿ, P.; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, 38, 773; c) Fraser-Reid B.; Carthy B. J. *Can J. Chem.* **1972**, 50, 2928.
12. Corsaro, A.; Pistarà, V.; Vittorino, E.; *Carbohydr. Res.* **2003**, 338, 2349.
13. Pistarà, V.; Barili, P.L.; Corsaro, A.; Catelani, G.; D'Andrea, F.; Fisichella, S. *Tetrahedron Lett.* **2000**, 41, 3253.

14. Vocadlo, D. J.; Davies, G. J.; Laine, R.; Withers, S. G. *Nature* **2001**, *412*, 835.
15. Enright, P.M.; Tosin, M.; Nieuwenhuyzen, M.; Cronin, L.; Murphy, P.V. *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 3733.
16. (a) Aubry A.; Protas J.; Duchasoy P.; Di Cesare P. *Acta Cryst* 1981, B37, 1477. b) Duchasoy P., Di Cesare P., Gross B., *Synthesis*, **1979**, 198.
17. Corsaro, A.; Pistarà, V.; Catelani, G.; D'Andrea, F.; Adamo, R.; Chiacchio, M. A. *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47*, 6591.
18. E. Borges de Melo, A. Gomes da Silvera, I. Carvalho, *Tetrahedron* **2006**, *62*, 10277–10302.
19. Compain, P.; Martin, O.R. *Curr. To. Med. Chem.* **2003**, *3*, 541.
20. (a) M. Yusuke, T. Koji, H. Masatoshi, *Mol. Cell. Pharm.* **2009**, *1*, 188–192; b) S. Horii, H. Fukase, T. Matsuo, Y. Kameda, N. Asano, K. Matsui, *J. Med. Chem.* **1986**, *29*, 1038–1046. b )K. Matsumoto, M. Yano, S. Miyake, Y. Ueki, Y. Yamaguchi, S. Akazawa, Y. Tominaga, *Diabetes Care*, **1998**, *21*, 256–260; c) N. Asano, R. J. Nash, R. J. Molyneux, G. W. J. Fleet, *Tetrahedron: Asymmetry*, 2000, *11*, 1645–1680; d) M. Bollen, A. Vandebroek, W. Stalmans, *Biochem. Pharmacol.* **1988**, *37*, 905–909; e); P. Compain, O. R. Martin in *Iminosugars: From Synthesis to Therapeutic Applications* (Eds.: P. Compain O. R. Martin), John Wiley & Sons Ltd.: West Sussex, England, **2007**; f) P. C. Tyler, B. G. Winchester in *Iminosugars as Glycosidase Inhibitors: Nojirimycin and Beyond* (Ed.: A. E. Stütz), Wiley-VCH, Weinheim, **1999**, pp. 125–155; g) T.D. Butters, R. A. Dwek, F. M. Platt, *Curr. Top. Med. Chem.* **2003**, *3*, 561–574.
21. (a) Le Merrer, Y.; Sanière, M.; McCort, I.; Dupuy, C.; Depezay, J.-C. *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 2661–2663; b) Hirose, T.; Miyashita, Y.; Takagi, M.; Sumitani, S.; Kouhara, H.; Kasayaama, S. *Diabetes Res. Clin. Pract.* **2001**, *54*, 9–15. c) Cornish, W. R. *Can. J. Clin. Pharmacol.* **1997**, *4*, 15–23; d) Gravier-Pelletier, C.; Andriuzzi, O.; Le Merrer, Y. *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 245–248. d) Le Merrer Y.; Dureault, A.; Greck, C.; Micas- Languin, D.; Gravier, C.; Depazay, J. C. *Heterocycles* **1987**, *25*, 541- 548; e) Vargha, L.; Kasztreiner, E. *Chem. Ber.* **1959**, 2506–2515.
22. Pistarà, V.; Rescifina, A.; Punzo, F.; Greco, G; Barbera, V.; Corsaro, A. *Eur. JOC.* **2011**, *36*, 7278–7287.
23. Corsaro, A.; Pistarà, V. ; Vittorino, E.; *Carbohydr. Res.* **2003**, 338, 2349.
24. (a) Taillefumier, C.; Chapleur, Y. *Chem. Rev.* **2004**, *104*, 263; b) Corsaro, A.; Chiacchio, U.; Adamo, R.; Pistarà, V.; Rescifina, A.; Romeo, R.; Catelani, G.; D'Andrea , F.; Mariani, M.; Attolino, E. *Tetrahedron* **2004**, *60*, 3787; c) Corsaro, A.; Chiacchio, M. A; Pistarà, V.; Vittorino, E.; *Tetrahedron* **2008**, *64*, 8652.
25. Simmons, H. E.; Cairns, T. L.; Vladuchik, S. A.; Hoiness, C. M. *Org. React.* **1973**, *20*, 1–131.
26. Metropolis, N.; Ulam, S. *J. Am. Stat. Ass.* **1949**, *44*, 335–341.

27. Landi, M.; Catelani, G.; D'Andrea, F.; Ghidini, E.; Amari, G.; Puccini, P.; Bianchi, N.; Gambari, R. *Eur. Jou. Med. Chem*, **2009**, 44, 745.
28. (a) E. W. Baxter, A. B. Reitz, *J. Org. Chem.* **1994**, 59, 3175–3185; b) D. D. Dhavale, N. N. Saha, V. N. Desai, *J. Org. Chem.* **1997**, 64, 7482–7484.
29. (A. H. Hoveyda , D. A. Evans, G. C. Fu, *Chem. Rev.* **1993**, 93, 1307–1370.
30. K. M. Robinson, M. E. Begovic, B. L. Rhinehart, E. W. Heineke, J. B. Ducep, P. R. Kastner, F. N. Marshall, C. Danzin, 576, *Diabetes* **1991**, 40, 825–830.
31. J. B. Ducep; C. Danzin, *Eur. Pat. Appl.* **1989**, EP 344383.
32. P. L. Barili, G. Berti, G. Catelani, F. D'Andrea, F. De Rensis, L. Puccioni, *Tetrahedron* **1997**, 53, 3407–3416.
33. L. Sim, K. Jayakanthan, S. Mohan, R. Nasi, B. D. Johnston, B. M. Pinto, D. R. Rose, *Biochemistry* **2010**, 49, 443–451.
34. G. J. Davies, K. S. Wilson, B. Henrissat, *Biochem. J.* **1997**, 321, 557–559.
35. A. C. Wallace, R. A. Laskowski, J. M. Thornton, *Protein Eng.* **1996**, 8, 127–134.
36. S. Mohan, L. Sim, D. R. Rose, B. M. Pinto, *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, 18, 7794–7798.
37. F. Cardona, C. Parmeggiani, E. Faggi, C. Bonaccini, P. Gratter, L. Sim, T. M. Gloster, S. Roberts, G. J. Davies, D. R. Rose, A. Goti, *Chem. Eur. J.* **2009**, 15, 1627–1636.
38. L. Sim, K. Jayakanthan, S. Mohan, R. Nasi, B. D. Johnston, B. M. Pinto, D. R. Rose, *Biochemistry* **2010**, 49, 443–451.
39. A. E. Stutz, in: *Iminosugars as Glycosidase Inhibitors: Nojirimycin and Beyond*, Wiley-VCH, Weinheim, Germany, **1999**.
40. E. Borges de Melo, A. Gomes da Silvera, I. Carvalho, *Tetrahedron*, **2006**, 62, 10277–10302.